(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2022-0164470
(43) 공개일자 2022년12월13일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 31/137 (2006.01) *A61B 5/00* (2021.01)
A61K 33/06 (2006.01) *A61K 33/24* (2019.01)
A61K 33/30 (2006.01) *A61K 45/06* (2006.01)
A61P 25/24 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 31/137 (2013.01)
A61B 5/4848 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2022-7026586
(22) 출원일자(국제) 2020년12월30일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2022년08월01일
(86) 국제출원번호 PCT/US2020/067498
(87) 국제공개번호 WO 2021/138443
국제공개일자 2021년07월08일
(30) 우선권주장
62/956,839 2020년01월03일 미국(US)
(뒷면에 계속)

(71) 출원인
유니버시티 오브 파도바
이탈리아 35122 파도바 비아 8 페브라이오
인스티튜트 포 리서치 인 바이오메드슨
스위스 6500 벨린초나 비아 프란체스코 치에사 5
(뒷면에 계속)
(72) 발명자
만프레디 파올로 엘.
미국 플로리다 33139 마이애미 비치 아일랜드 애비뉴 14제이 5
인터리시 찰스 이.
미국 뉴욕주 10028 뉴욕 아파트 2에스 이스트 82번가 444
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
서장찬, 박병석

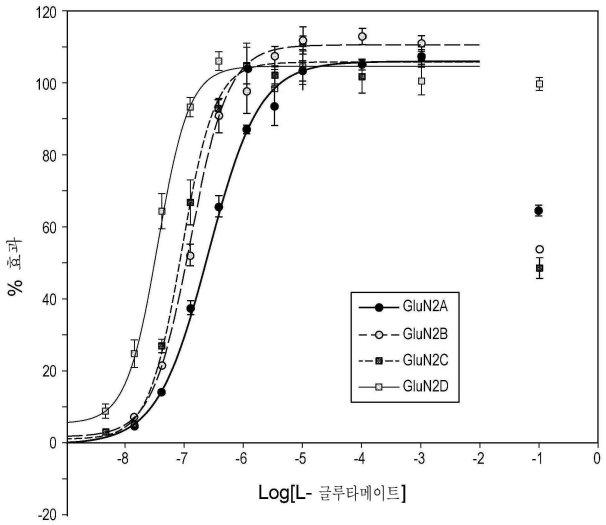
전체 청구항 수 : 총 86 항

(54) 발명의 명칭 **신경정신 장애 및 질병에 대한 질병-조절 치료제로서의 덱스트로메타돈**

(57) 요 약

신경정신 장애의 경과 및 중증도를 조절하기 위한 방법 및 조성물이 제공된다. 그 방법은 신경정신 장애를 앓고 있는 피시험자에게 조성물을 투여하는 단계를 포함하고, 조성물은 덱스트로메타돈, 덱스트로메타돈 대사물, d-메타돌, d-알파-아세틸메타돌, d-알파-노르메타돌, l-알파-노르메타돌, 및 약학적으로 허용가능한 이들의 염으로부터 선택된 물질을 포함한다.

대 표 도 - 도1



(52) CPC특허분류
A61K 33/06 (2013.01)
A61K 33/24 (2022.01)
A61K 33/30 (2013.01)
A61K 45/06 (2013.01)
A61P 25/24 (2018.01)
A61K 2300/00 (2013.01)

(71) 출원인
만프레디 파올로 엘.
미국 플로리다 33139 마이애미 비치 아일랜드 애비뉴 14제이 5
인터리시 찰스 이.
미국 뉴욕주 10028 뉴욕 아파트 2에스 이스트 82번가 444

(72) 발명자
데 마르틴 사라
이탈리아 35010 비곤자 파도바 비아 케자 48/디
마타레이 안드레아
이탈리아 35010 패러올로 디 비곤자 파도바 비아 비. 바리소니 9씨
스그리냐니 야코포
이탈리아 24031 알멘노 산 살바토레 베르가모 &비아 마르티리 오브 케팔로니아 23
카발리 안드레아
스위스 8047 취리히 알비스리더스트라쎄 184 비

(30) 우선권주장
62/963,874 2020년01월21일 미국(US)
62/993,188 2020년03월23일 미국(US)
63/010,391 2020년04월15일 미국(US)
63/031,785 2020년05월29일 미국(US)

명 세 서

청구범위

청구항 1

신경정신 장애의 경과 및 중증도를 조절하는 방법으로서:

신경정신 장애를 앓고 있는 피시험자에게 조성물을 투여하는 단계로, 상기 신경정신 장애는 주요 우울 장애, 지속성 우울 장애, 파괴적 기분 조절 장애, 월경전 불쾌 장애, 산후 우울 장애, 양극성 장애, 경조증 및 조증 장애, 범불안 장애, 사회 불안 장애, 신체 증상 장애, 사별 우울 장애, 적응 우울 장애, 외상 후 스트레스 장애, 강박 장애, 만성 통증 장애, 과민성 방광 장애, 및 약물 사용 장애로부터 선택되는 단계를 포함하고;

여기서 상기 조성물은 덱스트로메타돈, 덱스트로메타돈 대사물, d-메타돌, d-알파-아세틸메타돌, d-알파-노르메타돌, l-알파-노르메타돌, 및 약학적으로 허용가능한 이들의 염으로부터 선택된 물질을 포함하는 방법.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 물질은 상기 신경정신 장애를 치료하기 위한 조성물에서 유일한 활성제인 방법.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 물질은 거울상 이성질체로부터 분리되거나 새로 합성되는 방법.

청구항 4

제1항에 있어서,

상기 조성물의 투여는 상기 물질이 상기 피시험자의 NMDA 수용체에 결합하고 상기 신경정신 장애의 경과 및 중증도를 조절함으로서 상기 피시험자를 완화시키는데 효과적인 조건 하에서 일어나는 방법.

청구항 5

제4항에 있어서,

완화는 상기 신경정신 장애의 치료, 상기 신경정신 장애의 예방, 상기 신경정신 장애의 중증도 감소, 및 상기 신경정신 장애의 기간 감소로부터 선택되는 방법.

청구항 6

제1항에 있어서,

상기 조성물의 투여는 단일요법으로 일어나는 방법.

청구항 7

제1항에 있어서,

상기 조성물의 투여는 제2 물질에 대한 보조 치료의 일부로 일어나는 방법.

청구항 8

제1항에 있어서,

상기 조성물의 투여는 이온 채널, 신경전달물질 시스템, 신경전달물질 경로, 또는 이온성 글루타메이트 수용체, 5-HT2A 수용체, 5-HT2C 수용체, 아편유사제 수용체, AChR, SERT, NET, 시그마 1 수용체, K 채널, Na 채널, 및 Ca 채널로부터 선택되는 수용체에서의 작용에 효과적인 조건 하에서 일어나는 방법.

청구항 9

제8항에 있어서,

상기 조성물의 투여는 이온성 글루타메이트 수용체에서의 작용에 효과적인 조건 하에서 일어나고, 여기서 상기 이온성 글루타메이트 수용체는 NMDAR인 방법.

청구항 10

제9항에 있어서,

상기 이온성 글루타메이트 수용체에서의 작용은 세포막에 의해 발현되는 NMDAR의 전압 의존성 채널 차단을 포함하는 방법.

청구항 11

제10항에 있어서,

상기 이온성 글루타메이트 수용체에서의 작용은 NR2C 및 NR2D 서브유닛을 포함하는 NMDAR에 우선적인 영향을 미치는 세포막에 의해 발현되는 NMDAR의 전압 의존성 채널 차단을 포함하는 방법.

청구항 12

제9항에 있어서,

상기 이온성 글루타메이트 수용체에서의 작용은 신경 가소성에 기여하고 상기 시냅스 단백질의 막 발현에 기여하는 NMDAR 서브유닛 또는 다른 시냅스 단백질의 합성 유도를 포함하는 방법.

청구항 13

제1항에 있어서,

상기 피시험자는 척추동물인 방법.

청구항 14

제13항에 있어서,

상기 척추동물은 인간인 방법.

청구항 15

제1항에 있어서,

상기 물질은 덱스트로메타돈인 방법.

청구항 16

제15항에 있어서,

상기 덱스트로메타돈은 약학적으로 허용가능한 염의 형태인 방법.

청구항 17

제15항에 있어서,

상기 덱스트로메타돈은 0.1 mg 내지 5,000 mg의 총 일일 투여량으로 전달되는 방법.

청구항 18

제1항에 있어서,

상기 조성물의 투여는 피시험자에서 상기 신경정신 장애의 경과 및 중증도를 조절하고, 여기서 상기 완화는 상기 물질의 최초 투여 후 2주 이하, 상기 물질의 최초 투여 후 7일 이하, 상기 물질의 최초 투여 후 4일 이하,

또한 상기 물질의 최초 투여 후 2일 이하 중에서 선택된 기간 내에 시작되는 방법.

청구항 19

제15항에 있어서,

상기 조성물 투여로 인한 덱스트로메타돈의 치료 효과는 2상 임상 시험에서 0.3 보다 크거나 같은 효과 크기, 2상 임상 시험에서 0.5 보다 크거나 같은 효과 크기, 또는 2상 임상 시험에서 0.7 보다 크거나 같은 효과 크기에 도달하는 방법.

청구항 20

제19항에 있어서,

상기 치료 효과는 치료 중단 이후 최소 1주일 동안 지속되는 방법.

청구항 21

제19항에 있어서,

치료 중단 이후 상기 치료 효과의 지속 시간은 치료 지속 기간 보다 크거나 같은 방법.

청구항 22

제1항에 있어서,

상기 조성물의 투여는 상기 피시험자에 대한 하나 이상의 항우울제의 투여와 함께 또는 추가로 일어나는 방법.

청구항 23

제1항에 있어서,

상기 조성물의 투여는 상기 피시험자에 대한 마그네슘, 아연, 또는 리튬 중 하나 이상의 투여와 함께 또는 추가로 일어나는 방법.

청구항 24

제15항에 있어서,

상기 조성물의 투여는 상기 신경정신 장애의 질병-조정을 초래하는 방법.

청구항 25

제24항에 있어서,

상기 피시험자는 35 보다 작거나 같은 체질량 지수를 갖는 방법.

청구항 26

제1항에 있어서,

상기 조성물의 투여는 인지 기능 개선, 사회적 기능 개선, 수면 개선, 성 기능 개선, 직장 수행 능력 개선, 또는 사회적 활동에 대한 동기 개선에 사용되는 방법.

청구항 27

제1항에 있어서,

상기 조성물의 투여는 경구, 협측, 설하, 직장, 질, 비강, 에어로졸, 경피, 비경구, 정맥내, 피하, 경막외, 척수강내, 귀내, 안내 또는 국소적으로 실행되는 방법.

청구항 28

제1항에 있어서,

상기 조성물의 투여는 1일 25 mg의 용량으로 일어나는 방법.

청구항 29

제1항에 있어서,

상기 조성물의 투여는 상기 조성물의 부하 용량을 투여하고 이어서 상기 조성물의 1일 용량을 투여하는 것을 포함하는 방법.

청구항 30

제29항에 있어서,

상기 조성물의 부하 용량은 상기 조성물의 각 1일 용량에 존재하는 상기 물질의 양 보다 많은 물질의 양을 포함하는 방법.

청구항 31

제30항에 있어서,

안정 상태 보다 높거나 같은 혈장 수준은 상기 조성물 투여 첫날에 도달되는 방법.

청구항 32

제30항에 있어서,

안정 상태 보다 높거나 같은 혈장 수준은 상기 조성물 투여 4시간 내에 도달되는 방법.

청구항 33

제1항에 있어서,

상기 조성물 투여에 이어서, 상기 피시험자에서 상기 물질의 총 혈장 수준은 5 ng/ml 내지 3000 ng/ml의 범위에 있는 방법.

청구항 34

제1항에 있어서,

상기 조성물 투여에 이어서, 상기 피시험자에서 상기 물질의 비결합 수준은 0.1 nM 내지 1,500 nM의 범위에 있는 방법.

청구항 35

제1항에 있어서,

상기 조성물의 투여는 격일, 3일에 1회, 주 1회, 격주, 2주에 1회, 월 1주, 격월, 2개월에 1회, 3개월에 1회, 1년에 1주, 1년에 1개월에서 선택되는 간헐적인 치료 일정으로 일어나는 방법.

청구항 36

제35항에 있어서,

상기 조성물의 투여는 상기 선택된 간헐적인 치료 일정에서 위약과 교대로 이루어지는 방법.

청구항 37

제36항에 있어서,

위약 대신에 또는 그에 추가하여, 상기 방법은 마그네슘, 아연, 또는 리튬 중 하나 이상을 포함하는 방법.

청구항 38

제1항에 있어서,

증상과 징후 및 기능과 장애 결과의 디지털 모니터링을 포함하여 장애의 경과를 모니터링하기 위한 디지털 애플리케이션과 추가로 연관되는 방법.

청구항 39

제8항에 있어서,

상기 수용체는 아편유사제 수용체이고 MOR, KOR, 및 DOR에서 선택되는 수용체인 방법.

청구항 40

신경정신 장애를 치료하는 방법으로서:

주요 우울 장애, 지속성 우울 장애, 파괴적 기분 조절 장애, 월경전 불쾌 장애, 산후 우울 장애, 양극성 장애, 경조증 및 조증 장애, 범불안 장애, 사회 불안 장애, 신체 증상 장애, 사별 우울 장애, 적응 우울 장애, 외상 후 스트레스 장애, 강박 장애, 만성 통증 장애, 및 약물 사용 장애로부터 선택되는 신경정신 장애를 가진 개인을 진단하는 단계;

상기 개인의 신경정신 장애를 치료하는 과정을 개발하는 단계; 및

상기 개인의 MDD를 치료하는 상기 과정 중 적어도 일부로서 상기 개인에게 물질을 투여하는 단계로, 상기 물질은 덱스트로메타돈, 덱스트로메타돈 대사물, d-메타돌, d-알파-아세틸메타돌, d-알파-노르메타돌, l-알파-노르메타돌, 및 약학적으로 허용가능한 이들의 염으로부터 선택되는 단계를 포함하는 방법.

청구항 41

MDD를 치료하는 방법으로서:

MDD를 가진 개인을 진단하는 단계;

상기 개인의 MDD를 치료하는 과정을 개발하는 단계; 및

상기 개인의 MDD를 치료하는 상기 과정 중 적어도 일부로서 상기 개인에게 덱스트로메타돈을 투여하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 42

신경정신 장애를 치료하는 방법으로서:

NMDAR 서브유닛, AMPAR 서브유닛, 또는 신경 가소성 및 조립된 NMDAR 채널에 기여하는 다른 시냅스 단백질의 피시험자에서 전사, 합성 및 막 발현을 유도하는 단계를 포함하고;

여기서 상기 피시험자는 신경정신 장애를 앓고 있고, 상기 신경정신 장애는 주요 우울 장애, 지속성 우울 장애, 파괴적 기분 조절 장애, 월경전 불쾌 장애, 산후 우울 장애, 양극성 장애, 경조증 및 조증 장애, 범불안 장애, 사회 불안 장애, 신체 증상 장애, 사별 우울 장애, 적응 우울 장애, 외상 후 스트레스 장애, 강박 장애, 만성 통증 장애, 과민성 방광 장애, 및 약물 사용 장애로부터 선택되고;

상기 NMDAR 서브유닛, AMPAR 서브유닛, 또는 신경 가소성에 기여하는 다른 시냅스 단백질의 전사, 합성 및 막 발현을 유도하는 단계는 덱스트로메타돈, 덱스트로메타돈 대사물, d-메타돌, d-알파-아세틸메타돌, d-알파-노르메타돌, l-알파-노르메타돌, 및 약학적으로 허용가능한 이들의 염으로부터 선택되는 물질을 상기 피시험자에게 투여함으로서 달성되는 방법.

청구항 43

제42항에 있어서,

상기 신경정신 장애의 치료는 상기 신경정신 장애의 완화를 초래하고, 상기 완화는 상기 신경정신 장애의 치료, 상기 신경정신 장애의 예방, 상기 신경정신 장애의 중증도 감소, 및 상기 신경정신 장애의 발병률 감소로부터 선택되는 방법.

청구항 44

제42항에 있어서,

상기 피시험자는 척추동물인 방법.

청구항 45

제42항에 있어서,

상기 척추동물은 인간인 방법.

청구항 46

제42항에 있어서,

상기 물질은 덱스트로메타돈인 방법.

청구항 47

제42항에 있어서,

상기 덱스트로메타돈은 약학적으로 허용가능한 염의 형태인 방법.

청구항 48

제42항에 있어서,

상기 덱스트로메타돈은 0.1 ㎎ 내지 5,000 ㎎의 총 일일 투여량으로 전달되는 방법.

청구항 49

제42항에 있어서,

상기 신경정신 장애로부터의 상기 피험자의 완화는 상기 물질의 최초 투여 후 2주 이하에 시작되는 방법.

청구항 50

제42항에 있어서,

상기 신경정신 장애로부터의 상기 피험자의 완화는 상기 물질의 최초 투여 후 7일 이하에 시작되는 방법.

청구항 51

제42항에 있어서,

덱스트로메타돈의 치료 효과는 2상 임상 시험에서 0.3 보다 크거나 같은 효과 크기, 2상 임상 시험에서 0.5 보다 크거나 같은 효과 크기, 또는 2상 임상 시험에서 0.7 보다 크거나 같은 효과 크기에 도달하는 방법.

청구항 52

제51항에 있어서,

상기 치료 효과는 치료 중단 이후 최소 1주일 동안 지속되는 방법.

청구항 53

제51항에 있어서,

치료 중단 이후 상기 치료 효과의 지속 시간은 치료 지속 기간 보다 크거나 같은 방법.

청구항 54

제42항에 있어서,

상기 조성물의 투여는 상기 피시험자에 대한 항우울제의 투여와 함께 일어나는 방법.

청구항 55

제42항에 있어서,

상기 조성물의 투여는 상기 피시험자에 대한 마그네슘, 아연, 또는 리튬 중 하나 이상의 투여와 함께 일어나는 방법.

청구항 56

제46항에 있어서,

덱스트로메타돈은 MDD 및 관련 신경정신 장애로 진단되고 체질량 지수가 35 보다 작거나 같은 환자를 위한 질병-조절제 또는 치료제로 사용되는 방법.

청구항 57

제42항에 있어서,

상기 조성물의 투여는 인지 기능 개선, 사회적 기능 개선, 수면 개선, 성 기능 개선, 직장 수행 능력 개선에 사용되는 방법.

청구항 58

제42항에 있어서,

상기 조성물의 투여는 경구, 협측, 설하, 직장, 질, 비강, 에어로졸, 경피, 비경구, 정맥내, 피하, 경막외, 척수강내, 귀내, 안내 또는 국소적으로 실행되는 방법.

청구항 59

제42항에 있어서,

상기 조성물의 투여는 1일 0.01 - 1000 mg의 용량으로 일어나는 방법.

청구항 60

제42항에 있어서,

상기 조성물의 투여는 상기 조성물의 부하 용량을 투여하고 이어서 상기 조성물의 1일 용량을 투여하는 것을 포함하는 방법.

청구항 61

제60항에 있어서,

상기 조성물의 부하 용량은 상기 조성물의 각 1일 용량에 존재하는 상기 물질의 양의 두배 이상인 물질의 양을 포함하는 방법.

청구항 62

제42항에 있어서,

안정 상태는 상기 조성물 투여 첫날에 도달되는 방법.

청구항 63

제42항에 있어서,

안정 상태는 상기 조성물 투여 4시간 내에 도달되는 방법.

청구항 64

제42항에 있어서,

상기 조성물 투여에 이어서, 상기 피시험자에서 상기 물질의 비결합 수준은 5 ng/ml 내지 3000 ng/ml인 방법.

청구항 65

제42항에 있어서,

상기 조성물 투여에 이어서, 상기 피시험자에서 상기 물질의 비결합 수준은 0.5 nM 내지 1,500 nM인 방법.

청구항 66

제42항에 있어서,

상기 조성물의 투여는 주 1회, 격일, 3일에 1회, 매주 1회, 격주, 2일에 1회, 3일에 1회, 2주에 1회, 및 격월에서 선택되는 간헐적인 치료 일정으로 일어나는 방법.

청구항 67

제66항에 있어서,

상기 조성물의 투여는 상기 선택된 간헐적인 치료 일정에서 위약과 교대로 이루어지는 방법.

청구항 68

제67항에 있어서,

위약 대신에 또는 그에 추가하여, 마그네슘, 아연, 또는 리튬 중 하나 이상을 포함하는 방법.

청구항 69

제42항에 있어서,

증상과 징후 및 기능과 장애 결과를 포함하여, 장애의 경과를 모니터링하기 위한 디지털 애플리케이션과 추가로 연관되는 방법.

청구항 70

이온 채널의 기능장애를 특징으로 하는 질병 또는 장애를 치료하는 방법으로서:

이온 채널의 기능장애를 특징으로 하는 질병 또는 장애를 가진 개인을 진단하는 단계;

상기 개인의 질병 또는 장애를 치료하는 과정을 개발하는 단계로, 여기서 상기 질병 또는 장애를 치료하는 과정은 이온 채널의 기능장애의 해결을 포함하는 단계; 및

이온 채널의 기능장애을 해결하는 상기 과정 중 적어도 일부로서 상기 개인에게 물질을 투여하는 단계로, 상기 물질은 덱스트로메타돈, 덱스트로메타돈 대사물, d-메타돌, d-알파-아세틸메타돌, d-알파-노르메타돌, l-알파-노르메타돌, 및 약학적으로 허용가능한 이들의 염으로부터 선택되는 단계를 포함하는 방법.

청구항 71

제70항에 있어서,

상기 이온 채널은 하나 이상의 NMDAR에 필수적인 방법.

청구항 72

제70항에 있어서,

상기 이온 채널은 Glun2C 서브유닛을 포함하는 NMDAR에 필수적인 방법.

청구항 73

제70항에 있어서,

상기 이온 채널은 Glun2D 서브유닛을 포함하는 NMDAR에 필수적인 방법.

청구항 74

제70항에 있어서,

상기 이온 채널은 Glun2B 서브유닛을 포함하는 NMDAR에 필수적인 방법.

청구항 75

제70항에 있어서,

상기 이온 채널은 Glun2A 서브유닛을 포함하는 NMDAR에 필수적인 방법.

청구항 76

제70항에 있어서,

상기 이온 채널은 Glun3A 서브유닛을 포함하는 NMDAR에 필수적인 방법.

청구항 77

병리학적으로 과활성된 NMDAR 채널에 의해 유발, 악화, 또는 유지되는 질환으로 장애를 진단하는 방법으로서:

피시험자에게 조성물을 투여하는 단계로, 상기 조성물은 덱스트로메타돈, 덱스트로메타돈 대사물, d-메타돌, d-알파-아세틸메타돌, d-알파-노르메타돌, l-알파-노르메타돌, 및 약학적으로 허용가능한 이들의 염으로부터 선택된 물질을 포함하고, 상기 피시험자는 신경 장애, 신경정신 장애, 안과 장애, 이비인후과 장애, 대사 장애, 골다공증, 비뇨생식기 장애, 신장 장애, 불임, 조기 난소 부전, 간 장애, 면역 장애, 종양 장애, 심혈관 장애로부터 선택된 불명확한 병태생리 장애 중 적어도 하나의 장애로 진단된 단계;

상기 조성물의 투여 전후에 각각의 장애에 대해 특정한 엔드포인트를 측정함으로서 상기 적어도 하나의 장애에서 상기 조성물의 유효성을 결정하는 단계; 및

특정한 엔드포인트의 개선을 나타내는 피시험자를 병리학적으로 과활성된 NMDAR 채널에 의해 유발, 악화, 또는 유지되는 장애로 진단하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 78

제70항에 있어서,

상기 이온 채널은 Glun3B 서브유닛을 포함하는 NMDAR에 필수적인 방법.

청구항 79

COVID-19를 포함한 감염성 질환으로부터 ARDS, DIC 및 신장, GI 및 신경계 합병증을 포함한, 급성 및 만성 합병증을 예방하는 방법으로서:

피시험자에게 조성물을 투여하는 단계로, 상기 조성물은 덱스트로메타돈, 덱스트로메타돈 대사물, d-메타돌, d-알파-아세틸메타돌, d-알파-노르메타돌, l-알파-노르메타돌, 및 약학적으로 허용가능한 이들의 염으로부터 선택된 물질을 포함하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 80

COVID-19를 포함한 감염성 질환으로부터 ARDS, DIC 및 신장, GI 및 신경계 합병증을 포함한, 급성 및 만성 합병증을 치료 및 진단하는 방법으로서:

피시험자에게 조성물을 투여하는 단계로, 상기 조성물은 덱스트로메타돈, 덱스트로메타돈 대사물, d-메타돌, d-알파-아세틸메타돌, d-알파-노르메타돌, l-알파-노르메타돌, 및 약학적으로 허용가능한 이들의 염으로부터 선택된 물질을 포함하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 81

ARDS, COPD, 폐 섬유증과 폐 감염, 및 그 후유증을 포함하여, GluN1-GluN2D 아형의 NMDAR, 폐 질환, 장애, 및 상태를 포함한, NMDAR의 과활성화에 의해 유발되는 폐 질환, 장애 및 상태를 치료 및 진단하는 방법으로서:

피시험자에게 조성물을 투여하는 단계로, 상기 조성물은 덱스트로메타돈, 덱스트로메타돈 대사물, d-메타돌, d-알파-아세틸메타돌, d-알파-노르메타돌, l-알파-노르메타돌, 및 약학적으로 허용가능한 이들의 염으로부터 선택

된 물질을 포함하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 82

궤양, 과민성 대장 증후군, 염증성 장 질환, NAFLD, NASH 및 대사 질환을 포함하여, 간 및 췌장 질환을 포함한, GI 질환, 장애 및 상태를 치료하는 방법으로서:

피시험자에게 조성물을 투여하는 단계로, 상기 조성물은 덱스트로메타돈, 덱스트로메타돈 대사물, d-메타돌, d-알파-아세틸메타돌, d-알파-노르메타돌, l-알파-노르메타돌, 및 약학적으로 허용가능한 이들의 염으로부터 선택된 물질을 포함하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 83

신부전, 불임, 조기난소부전, 월경전증후군, 및 자궁내막증을 포함한, 신장 및 비뇨생식기 질환, 장애 및 상태를 치료하는 방법으로서:

피시험자에게 조성물을 투여하는 단계로, 상기 조성물은 덱스트로메타돈, 덱스트로메타돈 대사물, d-메타돌, d-알파-아세틸메타돌, d-알파-노르메타돌, l-알파-노르메타돌, 및 약학적으로 허용가능한 이들의 염으로부터 선택된 물질을 포함하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 84

허혈성 심장 질환 및 울혈성 심부전을 포함한, 심혈관 장애 및 상태를 치료하는 방법으로서:

피시험자에게 조성물을 투여하는 단계로, 상기 조성물은 덱스트로메타돈, 덱스트로메타돈 대사물, d-메타돌, d-알파-아세틸메타돌, d-알파-노르메타돌, l-알파-노르메타돌, 및 약학적으로 허용가능한 이들의 염으로부터 선택된 물질을 포함하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 85

퀴놀린산 및 다른 염증 분자를 포함하여, SARS-CoV-2 바이러스 감염을 포함한 감염원에 반응성인 내인성 염증 분자에 의한 NMDAR의 과활성화에 의해 유발되는 급성 및 만성 질환, 장애 및 상태를 진단 또는 예방 또는 치료하는 방법으로서:

피시험자에게 조성물을 투여하는 단계로, 상기 조성물은 덱스트로메타돈, 덱스트로메타돈 대사물, d-메타돌, d-알파-아세틸메타돌, d-알파-노르메타돌, l-알파-노르메타돌, 및 약학적으로 허용가능한 이들의 염으로부터 선택된 물질을 포함하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 86

NMDAR GluN1-GluN2D 아형의 과활성화를 포함하여, 내인성 또는 내인성 약제에 의한 NMDAR의 과활성화에 의해 유발되는 천식을 포함한, 급성 및 만성 폐 질환을 진단 또는 예방 또는 치료하는 방법으로서:

피시험자에게 조성물을 투여하는 단계로, 상기 조성물은 덱스트로메타돈, 덱스트로메타돈 대사물, d-메타돌, d-알파-아세틸메타돌, d-알파-노르메타돌, l-알파-노르메타돌, 및 약학적으로 허용가능한 이들의 염으로부터 선택된 물질을 포함하는 단계를 포함하는 방법.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 관련 출원의 상호참조

[0002] 본 출원은 2020년 5월 29일자로 출원된 미국 특허 출원 일련 번호 63/031,785 , 2020년 4월 15일자로 출원된 미국 특허 출원 일련 번호 63/010,391, 2020년 3월 23일자로 출원된 미국 특허 출원 일련 번호 62/993,188, 2020년 1월 21일자로 출원된 미국 특허 출원 일련 번호 62/963,874, 및 2020년 1월 3일자로 출원된 미국 특허 출원 일련 번호 62/956,839의 출원일에 대한 우선권 혜택을 주장하고, 이들의 개시내용은 그 전체가 여기서 참조로 인용된다.

[0003] 발명의 분야

[0004] 본 발명은 다양한 장애와 질병의 치료, 및 이러한 치료를 위한 화합물 및/또는 조성물에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0005] 본 단락은 이하에서 설명되고 또한/또는 청구되는 본 발명의 다양한 측면과 관련될 수 있는 다양한 측면의 기술을 독자에게 소개하고자 한다. 이러한 논의는 독자에게 본 발명의 다양한 측면의 더 나은 이해를 돕기 위한 배경정보를 제공하는데 도움이 될 것으로 여겨진다. 따라서, 이러한 진술들은 이를 고려하여 판독되어야 하며, 종래 기술의 인정으로서 이해되지 않아야 한다.

[0006] 많은 신경정신 장애는 개인의 삶의 다양한 측면에 부정적인 영향을 미치는 중요한 임상 상태이다. 예를 들어, 주요 우울 장애(major depressive disorder, MDD)는 기분, 행동, 인지, 동기부여, 에너지, 사회화 및 작업 능력, 또한 식욕, 성 활동 및 수면과 같은 기본 기능에 영향을 미치는 중요한 임상 상태이다. 이는 일반적으로 대부분의 상황에서 최소 2주 동안 우울한 기분이 나타나는 특징의 정신 장애이다. 때로 낮은 자존감, 섭식 및 성 활동을 포함한 정상적으로 즐거운 활동에 대한 관심 상실, 인지 기능 감소, 낮은 에너지, 또한 명확한 원인 없는 통증 및/또는 고통이 동반된다. MDD는 개인의 가족 및 사회 생활, 직장 생활, 및/또는 교육 뿐만 아니라 수면, 식사, 성 습관, 및 일반 건강에 부정적인 영향을 미칠 수 있고, 자살로 이어질 수 있다.

[0007] MDD는 유전적 요인과 환경적 요인이 복합적으로 작용하여 발생하는 것으로 여겨진다. 위험 요소에는 상태의 가족력, 주요 삶의 변화, 건강 문제, 특정한 의학적 상태, 특정한 약물, 및 물질 남용이 포함된다. 상당한 양의 위험이 유전과 관련된 것으로 간주된다. MDD의 진단은 개인의 보고된 경험 및 훈련된 건강 케어 제공자에 의한 검사를 기반으로 한다. 테스트는 유사한 증상을 유발할 수 있는 신체 조건을 배제하도록 수행될 수 있다. MDD는 우울증(우울한 기분)의 고립된 증상보다 더 심각하고 더 오래 지속되며, 우울증은 자체적이고 단기적일 수 있는 슬픔 또는 우울한 감정으로, 일반적으로 인지 기능과 에너지 레벨에 영향을 미치지 않고 사회화 및 작업 능력을 실질적으로 손상시키지 않는다.

[0008] 우울 장애 및 질병 진단에 가장 널리 사용되는 기준은 일반적으로 미국 및 비-유럽 국가에서 사용되는 미국 정신의학 협회(American Psychiatric Association)의 정신 장애 진단 및 통계 매뉴얼(DSM-5), 및 일반적으로 유럽 국가에서 사용되는 세계보건기구(World Health Organization)의 질병 및 관련 건강 문제에 대한 국제 통계 분류(ICD-10)에 있다.

[0009] MDD는 DSM-5에서 기분 장애로 분류된다. 진단은 단일 또는 재발성 주요 우울 에피소드의 존재 여부에 달려 있다. 에피소드 자체와 장애 경과를 분류하기 위해 추가 검증자가 사용된다. ICD-10 시스템은 우울 에피소드의 진단을 위한 (경증, 중등도 또는 중증) 유사한 기준을 나열한다.

[0010] 보다 특정하게, DSM-5에 따라 MDD로 진단되기 위해서는 피시험자가 다음 증상 중 5가지 이상을 가지고 있어야 하고, 2주 이상의 기간 동안 적어도 하루에 한 번 이를 경험해야한다: (1) 거의 매일 하루 종일 슬프거나 짜증을 느낄 때; (2) 한때 즐겼던 대부분의 활동에 덜 관심을 가질 때; (3) 급격한 체중 증가 또는 감소, 또는 식욕의 변화; (4) 잠이 오지 않거나 평소보다 더 많이 자고 싶을 때; (5) 안절부절함을 느낄 때; (6) 비정상적으로 피곤하거나 에너지가 부족할 때; (7) 때로 일반적으로 피시험자가 그렇게 느끼지 않았던 것들에 대한 무가치함 또는 죄책감; (8) 집중, 생각 또는 결정을 내리는데 어려움이 있을 때; 또한 (9) 자해 또는 자살에 대한 생각을 가질 때.

[0011] MDD 및 다른 신경정신 장애의 새로운 특징 중 하나는 특정한 뇌 세포의 (예를 들면, 뉴런 및 성상교세포) 분자 기능에서의 기능 장애로, 신경 회로의 (즉, 엔돌핀 시스템의 일부인 세포와 같은 시냅스로 연결된 다수의 뉴런) 기능 장애를 초래하게 된다. 본 출원에 비추어 이러한 신경 회로 기능 장애는 특히 이온 채널의 [예를 들면, N-메틸-D-아스파테이트 수용체(N-methyl-D-aspartate receptor, "NMDAR")에 통합된 이온 채널] 기능 장애에 의해 특징지워지거나 야기될 수 있다.

[0012] MDD 환자는 일반적으로 표준 항우울제 및/또는 상담으로 치료되고, 일차 케어 제공자에 의해 취해지는 초기 단계는 때로 항우울제의 처방이다. 이러한 약물에는 선택적인 세로토닌 재흡수 억제제(selective serotonin reuptake inhibitor, SSRI) [플루옥세틴(프로작(Prozac)) 및 시탈로프람(셀렉사(Celexa))과 같이 공지된 약물을 포함하는], 세로토닌 및 노르에피네프린 재흡수 억제제(serotonin and norepinephrine reuptake inhibitor, SNRI), 부프로피온이 포함된다. 세로토닌은 기분의 조절에 핵심적인 것으로 여겨지는 뇌 화학물질이다. MDD 환자는 세로토닌 수치가 낮은 것으로 생각된다. 그러므로, 가용 세로토닌의 양을 늘리는 것이 이러한 환자의 치료에 유용한 것으로 널리 간주된다.

[0013] SSRI 및 SNRI의 정확한 작용 메카니즘은 공지되지 않았지만, 가정된 메카니즘은 시냅스 접합부에서 선택 신경전달물질의 (세로토닌 및/또는 노르에피네프린) 증가와 함께 내부 수송체를 억제하는 것이다. 이러한 약물의 효과는 급성 및 만성적으로 매우 예측 불가능하다. 반응에서의 동일한 예측 불가능성은 다른 수용체 및/또는 경로에 작용하는 비정형 항우울제에 의해 공유된다. MDD의 경우, 이러한 치료의 효과 크기는 낮은 경향이 있고 (약 0.3), SSRI의 경우 (현재 MDD에 대한 표준 치료법), 치료 효과가 존재하는 경우 일반적으로 4 - 8주 지연되어 (환자의 50% 이상이 1차 항우울제에 반응하지 않는다), 일반적으로 수개월에 걸친 장기간의 치료를 요구한다. 요약하면, MDD 뿐만 아니라 만성 통증 장애, 불안 장애, 및 다른 신경정신 장애(정신분열증을 포함하여)와 같은 만성 장애에서 신경전달물질 수용체 및 경로를 직접 조절하려는 시도는 기대에 미치지 못했고, 현재의 치료법은 대체로 성공적이지 못하여 증상적 접근을 (기분을 조절하는 것으로 생각되는 화학물인 세로토닌을 증가시키게 되는 약물) 기반으로 한다.

[0014] 예를 들어, 일부 정신적 증상은 특정한 증상이나 증상들에 대해 선택한 신경전달물질 경로를 조절하여 일시적으로 개선될 수 있지만 (예를 들어, 우울증에 대한 SSRI 약물에 의한 세로토닌 경로의 조절), 이러한 조절은 또한 적어도 부분적으로 동일한 신경전달물질 경로와 함께 기능하지만 기능 장애가 없을 수 있는 뇌의 다른 회로 또는 영역에서 (또는 다른 조직, 예를 들어 추가 CNS 조직에서) 다른 뉴런의 기능을 방해할 가능성이 있다. 부가적으로, 시냅스 틈에서 신경전달물질 농도의 약리학적으로 유발된 급성적인 변화는 예측할 수 없는 장기적 결과와 함께 보상적 바이오피드백(biofeedback) 메카니즘을 트리거할 가능성이 있다. 따라서, 현재 사용되는 이러한 약물은, 특히 만성적으로 사용되는 경우, 분자 피드백 메카니즘으로 인해 좋지 않고 예측할 수 없는 장기적인 결과를 초래할 가능성이 있다. 작용 메카니즘에 내재된 비-선택성으로 인해, 일부 신경전달물질 경로 조절 약물은 (예를 들면, SSRI) 신경계 외부 경로에도 영향을 미치게 되고, 체중 증가, 내당능 장애, 당뇨병, 및 지질 대사 기능 장애와 같은 대사 부작용 및 성기능 장애와 같은 추가 부작용을 유발하게 된다.

[0015] 또한, 다수의 다른 내인성 신경전달물질/수용체 시스템이 있는 경우, 하나의 신경전달물질 시스템을 (또는 소수의 신경전달물질 시스템) 조절하면, 선택된 표적 증상을 개선할 수 있지만 그 회로에 대한 기능 장애의 주요 원인에 대해 (예를 들면, NMDAR 과잉행동) 작용하지 않는 (또는 작용할 가능성이 없는) 방식으로 기능 장애 회로의 기능을 조절할 수 있다. 결과적으로, 장애를 유발하고 유지한 기능 장애 세포는 주변 신경전달물질 수준의 약리학적으로 유발된 변화에도 불구하고 (때로 그로 인해) 기능 장애를 계속 유지하게 된다. MDD에 대한 SSRI로 분류되는 플루옥세틴 및 다른 약물은 세로토닌/5-HT 수용체 시스템에 대한 신경전달물질 경로 조절 약물의 한 예이다. 임상 시험에서는 이들이 일반적으로 약한 효과 크기를 나타내고, 지연되고, 예측 불가능하고, 또한 때로 지속적이지 않은 효능을 갖는다.

[0016] 또한, SSRI가 중단되면, 신경전달물질과 그 경로에 영향을 미치는 대부분의 약물에서와 같이, 환자가 금단 증상을 경험할 가능성이 있다. 그리고, 증상 약물의 갑작스러운 중단은 증상의 증대 현상을 (치료-이전 기준선과 비교해 증상이 악화되는) 초래할 수 있다. 일부의 경우, 특정한 시간이 지난 후, 증상 약물이 중단되지 않고 계속되어도 증대 현상이 나타날 수 있다 (예를 들면, 도파민 작용제의 경우).

[0017] 현재 약물 치료의 이러한 단점이 이미 공지되어 있지만, 항우울제 치료에 대한 부적절한 반응을 관리하기 위한 효과적인 대안이 (만약에 있더라도) 거의 없기 때문에 임상의들은 계속해서 이러한 약물을 사용하고 있다. 또한, 지금까지 MDD 및 관련 신경정신 장애의 기저에 깔린 분자 메카니즘에 대한 이해도 제한적이다. 따라서, 1차 항우울제가 MDD의 증상을 완화하는데 성공하지 못하면, 임상의는 초기 표준 항우울제의 용량을 최대화하거나, 다른 항우울제로 변경하거나, 전기경련 요법에 의존하거나, 또는 오프-라벨 약물로 치료를 증대시킬 수 있다 - 이러한 요법과 관련된 모든 단점을 감안하더라도. 일부 환자는 후속 또는 증대된 치료 접근법으로 증상 개선을 경험하지만, 관해 가능성은 추가 치료 단계로 감소하고 증상이 없어지기 전에 더 많은 치료 단계를 거친 사람들은 재발할 가능성이 더 높아진다. 환자에게 가장 큰 이점은 1차 또는 2차 치료 접근법이 성공적일 때 실현되지만, 현재의 치료 접근법으로는 이러한 성공이 얻어지지 못하는 경우가 많다.

[0018] 부가적으로, 작용의 느린 개시 및 현재 이용가능한 치료법의 부작용도 환자의 순응도를 떨어뜨리는 원인이 된다. 현재까지 미국 식품의약국(FDA)은 MDD 치료를 위한 항우울제의 보조 요법으로 3가지 약물만을 승인하였다. 세 가지 모두 2세대 비정형 항정신병 약물이고 (아리피프라졸, 퀘티아핀 연장 방출형 및 브렉스피프라졸), 악성 신경이완 증후군, 지연성 운동이상증, 또한 당뇨병, 이상지질혈증, 및 체중 증가를 포함한 대사 부작용에 대한 위험성을 증가시킨다. 또한, 표준 항우울제의 작용의 개시 지연은 자살 위험과 관련이 있다.

[0019] MDD를 (또한 다른 장애를) 치료하기 위한 현재 방법 및 조성물의 추가 문제점은 특정한 개체가 치료에 내성을 가질 수 있다는 것이다. 치료-내성 우울증(Treatment-resistant depression, TRD)은 특정한 시간 내에 적절한

항우울제에 충분히 반응하지 않는 MDD를 (또한 다른 유사한 장애를) 가진 사람들에게 영향을 미치는 상태를 설명하기 위해 임상 정신의학에서 사용되는 용어이다. TRD의 표준 정의는 다양하다. 규제 목적을 위해 (FDA), TRD는 현재 주요 우울 에피소드에서 표준 항우울제를 사용한 최소 2회의 적절한 시험에 반응하지 않는 것으로 현재 정의된다. 부적절한 반응은 전통적으로 어떠한 임상 반응도 없는 것으로 정의된다 (예를 들면, 우울 증상에서 개선이 없는 것). 그러나, 많은 임상의는 환자가 증상의 완전한 관해에 도달하지 못한 경우 반응이 부적절하다고 간주한다. 항우울제 치료에 적절하게 반응하지 않는 TRD 환자는 때로 의사 내성(pseudoresistant)이라 칭하여진다. 부적절한 치료에 기여하는 일부 요인은: 치료의 조기 중단, 약물의 불충분한 투여량, 환자의 불순응, 오진, 및 동반되는 신경정신 장애가 있다. TRD의 경우는 환자가 내성이 있는 약물을 기반으로 분류될 수도 있다 (예를 들면, SSRI-내성). TRD에서는 심리치료, 리튬, 또는 비정형 항정신병약물과 같은 추가 치료법을 더하여 달성된 임상적 이점 및 삶의 질 개선이 2020년 기준 약하게 지지된다.

[0020] 따라서, 현재까지 MDD 및 TRD와 같은 장애에 (또한, 특히, 지속 우울 장애, 산후 우울 장애, 및 사회 불안 장애와 같은 MDD와 유사한 다른 장애) 대한 치료는 차선책이다. 최근에는 기분에 영향을 미치는 고립된 증상을 (우울증의 고립된 증상과 같은) 치료하기 위한 치료법이 (상기에 기술된 것 이외에) 제안되었다.

[0021] 예를 들어, 본 발명자는 덱스트로메타돈이 통증 및 중독의 증상을 치료하는데 사용될 수 있고 (미국 특허 번호 6,008,258을 참조) 선별된 고립 심리적 및/또는 정신과적 증상을 치료하는데 사용될 수 있음을 (미국 특허 번호 9,468,611을 참조) 앞서 개시하였고, 여기서 현재 아편유사제 클래스에 포함된 분자의 선택된 이성질체 및 그 유도체는 임상적으로 의미 있는 아편유사제 수용체 효과를 갖지 않는 용량 및/또는 농도에서 NMDAR을 조절하고 이들 선별된 이성질체는 통증 및 고립된 정신과적 증상에 대한 치료가 될 수 있다.

[0022] 그러나, MDD는 고립된 정신과적 증상 (우울증의 고립된 증상과 같은) 보다, 병리학적 실체로서, 더 복잡하고 중대하게 정의된 장애이다. 상기에 기술된 바와 같이, 전문가 사이에는 고립된 정신과적 증상이 신경정신 장애를 정의하지 않고, 고립된 증상의 치료가 임상적인 신경정신 장애의 경과에 영향을 미치는 것으로 해석되지 않는다는 동의가 있다. 따라서, 우울증의 고립된 증상에 대한 치료는 (예를 들어, 미국 특허 번호 9,468,611) MDD 치료로 해석될 수 없는 것으로 간주되어 MDD 치료에 사용되지 않는다. 또한, 장애의 개선 없는 기분의 개선은 동기부여, 인지, 사회적 및 작업 능력, 또는 수면의 개선에 영향을 미치지 않을 수 있다.

[0023] 그와 관련하여, DSM-5는 신경정신 장애를 "정신 기능의 기반이 되는 심리적, 생물학적, 또는 발달 과정의 기능 장애를 반영하는 개인의 인지, 감정 조절, 또는 행동에서의 임상적으로 심각한 장애로 특징지워지는 증후군"이라 정의한다. ICD-11의 최종 초안은 (ICD-10의 후속 버전) 매우 유사한 정의를 포함한다. 전문가 사이에는 고립된 정신과적 증상이 DSM5 및 ICD-11에 의해 정의된 바와 같은 신경정신 장애를 정의하지 않는다는 동의가 있다. 예를 들어, 정신과적 증상은 질병이나 장애의 실제 부분이 아니라 개인의 고립된 특성이 될 수 있다. 또한, 정신과적 증상은 암이나 빈혈 환자의 피로, 갈색세포종 환자의 불안, 갑상선 기능저하증 환자의 우울한 기분과 같이, 다른 주요 장애로 인한 것일 수 있다. 부가적으로, 고립된 증상의 치료가 반드시 신경정신 장애의 경과에 영향을 미칠 것으로 예상되는 것은 아니다. 이와 같이, 지금까지, 고립된 정신과적 증상에 대한 치료는 (예를 들어, 우울증의 고립된 증상에 대한 치료) 이러한 치료가 증상을 (우울증의 증상과 같은) 완화할 수 있지만 정의된 신경정신 장애의 경과에 치료 효과를 갖는 것으로 보이지 않기 때문에 신경정신 장애로 (예를 들어, MDD) 해석될 수 있는 것으로 보지 않았다. 지금까지는 경과에 치료 효과를 갖는 것으로 나타난 MDD에 대한 치료법이 없다.

[0024] 상기에 기술된 바와 같이, MDD는 유전적 요인과 환경적 요인이 복합적으로 작용하여 발생하는 것으로 여겨진다. 유적적 + 환경적 패러다임(G+E)은 신경정신 장애에 대해 증가적으로 복잡해지고 있다. 현재까지 100개 이상의 독립적인 유전적 변이가 MDD 발병 위험 증가와 관련이 있다 [Howard DM, Adams MJ, Clarke TK, Hafferty JD, Gibson J, Shirali M 등 (2019년 3월), "우울증의 게놈 전체 메타 분석은 102개의 독립적인 변이를 식별하고 전전두엽 뇌 영역의 중요성을 강조한다 (Genome-wide meta-analysis of depression identifies 102 independent variants and highlights the importance of the prefrontal brain regions)", Nature Neuroscience, 22 (3): 343-352.]. 이러한 변이 중 일부는 NMDAR을 포함한 이온 채널에서의 유전적 이상을 포함할 수 있다. MDD는 (1) 근심 전전두엽 피질(mPFC) 및 해마를 포함한, 선택된 뇌 영역의 신경 세포 손실 및 위축 [Kempton MJ, Salvador Z, Munafo MR, Geddes JR, Simmons A, Frangou S, Williams SC (2011), "주요 우울 장애에서의 구조적 신경영상 연구. 양극성 장애와의 메타 분석 및 비교 (Structural neuroimaging studies in major depressive disorder. Meta-analysis and comparison with bipolar disorder)", Archives of General Psychiatry, 68 (7): 675-690], 및 (2) 변경된 신경 회로에 (Korgaonkar MS, Goldstein-Piekarski AN, Fornito A, Williams LM. 내재적인 커넥톰은 주요 우울 장애에서 관해의 예측 바이오마커이다 (Intrinsic connectomes are a

predictive biomarker of remission in major depressive disorder), Mol Psychiatry, 2019 Nov 6) 관련된다. 또한, MDD는 심혈관 위험 증가, 암, 및 비만과 연관된다 (Howard 등, 2019). 이와 같이 연관된 또한/또는 관련된 질병, 전신 염증의 실험실 지표, 및 상기에 언급된 구조적 뇌 변화를 (뉴런 위축 및 세포자멸사) 시사하는 영상은 개별 증상을 훨씬 능가하는 장애의 일부이고, 이러한 장애는 순수하게 증상적인 치료로 실질적으로 개선되지 않을 가능성이 있다. SSRI, SNRI, 부프로피온, 비정형 항정신병약물을 포함한 이용가능한 치료법은 질병 경과에 영향을 미치는 것으로 나타나지 않았다. SSRI, SNRI, 부프로피온, 및 비정형 항정신병약물은 질병의 과정 초기 또는 이후에 투여될 때 유사한 효과를 나타냈고, 이는 증상 치료의 특징을 나타낸다 (반면에 병인 메카니즘을 교정하여 질병의 경과를 유리하게 변화시킬 수 있는 잠재력을 갖는 치료법은 - 질병-조절 치료 - 대신에 질병 과정의 초기에 투여할 때 더 효과적이다).

[0025] 따라서, MDD 및 TRD와 다른 신경정신 장애는 우울증, 불안, 피로, 및 기분 불안정과 같은 증상의 존재만으로 정의되지 않는다. 우울증, 불안, 피로, 및 기분 불안정의 증상이 MDD 및 TRD의 진단에 필수적일 수 있지만, 우울한 기분만으로는 MDD의 진단에 충분하지 않다. 그러므로, 우울한 기분을 증상적으로 개선하고 다른 효과가 없는 약물은 MDD, TRD, 또는 다른 신경정신 질환의 경과에 큰 영향을 미치지 않을 수 있다. MDD 및 다른 질병과 장애를 포함한 신경정신 장애의 효과적인 질병-조절 치료는 하나 이상의 정신병 증상의 증상적 치료 이상의 효과를 갖는 약물을 요구한다. 이러한 질병-조절 치료는 매우 바람직하지만, 이러한 치료는 현재까지 알려져 있지 않다. 최근 승인된 약물인 에스케타민의 경우, 인지 및 다른 부작용으로 인해 TRD에 국한되지만, 질병 조절 효과가 입증되지 않았다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0026] 이후에는 본 발명의 특정한 예시적인 측면이 설명된다. 이러한 측면은 단지 독자에게 본 발명이 취할 수 있는 특정한 형태의 간략한 요약을 제공하기 위해 제시되고 이러한 측면이 본 발명의 범위를 제한하도록 의도되지 않는 것으로 이해되어야 한다. 실제로, 본 발명은 이후에 명시적으로 설명되지 않을 수 있는 다양한 측면을 포함할 수 있다.

[0027] 상기에 설명된 바와 같이, MDD 및 다른 신경정신 장애에 대한 현재의 치료법은 부적절하다. 현재 약물 요법의 효과는 매우 예측 불가능하고, MDD에서 - 뿐만 아니라 실망스러웠던 만성 통증 장애, 불안 장애, 및 정신분열증을 포함한 다른 신경정신 장애와 같은 다른 만성 장애에서 - 신경전달물질 수용체 및 경로의 직접적인 조절을 시도한다. 언급된 문제 중에는 (1) 신경 회로 기능 장애를 표적화하는데 사용되는 현재 약물이 신경정신 증상 및 장애를 유발하거나 악화시키는 피드백 분자 작용을 유발할 수 있다는 점; (2) 이러한 약물이 또한 동일한 신경전달물질 경로 내에서 기능 장애를 일으키지 않는 신경 회로를 방해할 수 있다는 점; (3) 현재 약물의 비-선택적 작용이 신경계 외부 조직에 영향을 주어 추가적인 부작용을 유발하게 된다는 점; (4) 현재의 약물이 증상을 개선하는 방식으로 기능 장애 회로의 기능을 변경할 수 있지만, 기능 장애의 주요 원인에는 작용하지 않는다는 점; (5) 환자가 현재 사용되는 약물을 중단하면 금단 증세를 경험할 수 있다는 점; 또한 (6) 환자가 현재 사용되는 약물을 중단하면 실제로 증상의 악화를 경험할 수 있다는 점이 있다.

[0028] 또한, 상기에 설명된 바와 같이, 개별 증상에 대한 (예를 들면, 우울증의 고립된 증상) 치료가 있지만, 이러한 치료는 (예를 들어, 증상적 치료를 위한 화합물 및/또는 조성물) MDD와 같은 장애의 치료에 유용한 것으로 간주되지 않는다. 예를 들어, 우울증의 고립된 증상에 긍정적인 영향을 갖는 특정한 약물이 유리한 안전성, 내약성, 및 약동학적 프로파일을 갖는 것으로 나타나지만 (Bernstein G, Davis K, Mills C, Wang L, McDonnell M, Oldenhof J 등. 건강한 아편유사제 사용 경험이 없는 피시험자를 대상으로 한 새로운 N-메틸-D-아스파테이트 수용체 길항제인 D-메타돈의 안전성 및 약동학적 프로파일 특성 분석: 1상 연구 2건의 결과 (Characterization of the safety and pharmacokinetic profile of D-methadone, a novel N-methyl-D-aspartate receptor antagonist in healthy, opioid-naive subjects: results of two phase 1 studies). J Clin Psychopharmacol. 2019;39:226-37을 참조), MDD 또는 임의의 신경정신 장애에 대한 이러한 약물의 효능에 대한 교시 또는 제안이 없고, 인지 부작용이 없는 MDD의 효능에 대한 교시 또는 제안이 없다.

[0029] 그리고, 추가 연구는 우울증과 유사한 행동의 동물 모델에서, 덱스트로메타돈과 같은 약물이 케타민과 유사한 mPFC에서 mTORC1-매개 시냅스 가소성을 통해 빠른 항우울제 작용을 유도하는 것으로 나타내지만 (예를 들어, Fogaca MV, Fukumoto K, Franklin T 등. N-메틸-D-아스파테이트 수용체 길항제 d-메타돈은 신속한 mTORC1-의존 항우울 효과를 나타낸다 (N-Methyl-D-aspartate receptor antagonist d-methadone produces rapid, mTORC1-

dependent antidepressant effects). Neuropsychopharmacology. 2019;44(13):2230-2238를 참조), 이러한 발견은 쥐 모델에서 실험적으로 유도된 우울-유사 행동의 개선을 설명하려는 시도로 제한된다. 그러나, 이러한 우울-유사 행동의 쥐 모델은 화학물이 잠재적으로 인간의 항우울 효과로 해석될 수 있는 행동 개선을 발휘할 가능성을 결정하는데 사용되기 때문에, MDD와 같은 신경정신 장애로 해석될 수 있는 것으로 보지 않는다; 이는 우울증의 고립된 증상에 유용한 약물을 나타낼 뿐이다 (상기에 기술된 바와 같이 이는 MDD의 임상 장애와 분리되고, 치료는 둘 사이를 해석할 수 있는 것으로 보이지 않는다).

과제의 해결 수단

[0030] 그러나, 본 발명의 측면은 MDD 및 이러한 다른 장애에 대한 현재 치료의 문제점을 감소 및/또는 제거한다. 일반적으로, 본 발명의 가장 중요한 측면은 MDD 및 다른 장애에 대한 질병-조절 치료를 제공한다. 여기서 사용되는 바와 같이, "질병-조절(disease-modifying)" 치료, 또는 "질병-조절" 가능성을 갖는 치료는 병인 메카니즘을 교정함으로서 질병의 경과를 유리하게 변경시킬 가능성을 갖는 약물 치료를 포함한다. 그러므로, 질병-조절 치료는 잠재적으로 완치될 수 있다. 대조적으로, 증상적 치료는 일반적으로 단지 완화적이다 - 증상을 완화하지만, 질병의 분자적 원인을 직접적으로 다루지는 않는다.

[0031] 여기서, 본 발명자에 의해 개발된 새로운 질병-조절 치료를 논의할 때, 용어 "질병" 및 "장애" 모두가 사용될 수 있다. 일반적으로, "질병"은 정의된 (또는 더 잘 정의된) 병태생리를 갖는 반면, "장애"에서는 병태생리에 대한 설명이 부족하거나 빠져있다. MDD는 (또한 여기서 논의되는 다른 장애) 병태생리에 대한 명확한 설명이 부족하기 때문에 종래 기술에 숙련된 자에 의해 "장애" 또는 "장애들"이라 정의된다. 그러나, 본 발명자의 연구는 (여기서 설명되는) MDD의 병태생리를 처음으로 해명하였다 (일반적으로 - 특정한 회로의 (예를 들면, 엔돌핀 회로) 일부인 뉴런에서 NMDAR을 통한 (예를 들어, GluN2C 및 GluN2D 서브유닛을 포함하는 강장적으로 활발한 NMDAR) 과도한 Ca^{2+} 유입이고, 이 과도한 유입은 신경 연결을 (예를 들어, 병적인 정서 기억을 대체할 수 있는 "건강한" 정서 기억) 형성하는데 필요한 신경 가소성에 (예를 들어, GluN1 서브유닛 및 다른 NMDAR 서브유닛과 같은 시냅스 단백질의 생산) 직접적으로 손상을 입히는). 본 발명자에 의한 이러한 병태생리의 해명으로, 비록 본 출원에서 예시가 제시되었지만, MDD는 (또한 유사한 병태생리를 공유하는 다른 장애) 이제 장애라기 보다는 질병으로 간주될 수 있다. 그래서, 용어 "질병" 및 "장애" 모두는 이러한 질환을 논의할 때 여기서 상호교환가능하게 사용될 수 있다.

[0032] 따라서, 본 발명의 한 측면은 신경정신 장애를 치료하는 방법에 관한 것으로, 그 방법은 신경정신 장애를 앓고 있는 피시험자에게 조성물을 투여하는 단계를 포함하고, 여기서 조성물은 장애를 치료하기 위한 물질을 포함한다 (질병-조절 효과를 나타내는 방식으로). 이 측면에서, 물질은 덱스트로메타돈, 덱스트로메타돈 대사물, d-메타돌, d-알파-아세틸메타돌, d-알파-노르메타돌, l-알파-노르메타돌, 및 약학적으로 허용가능한 이들의 염으로부터 선택될 수 있다. 치료되는 신경정신 장애는 주요 우울 장애, 지속성 우울 장애, 파괴적 기분 조절 장애, 월경전 불쾌 장애, 산후 우울 장애, 양극성 장애, 경조증 및 조증 장애, 범불안 장애, 사회 불안 장애, 신체 증상 장애, 사별 우울 장애, 적응 우울 장애, 외상 후 스트레스 장애, 강박 장애, 만성 통증 장애, 약물 사용 장애, 및 과민성 방광 장애로부터 선택될 수 있다 (그러나, 그에 제한되지 않는다).

[0033] 본 발명의 또 다른 측면은 신경정신 장애를 치료하는 방법에 관한 것으로, 그 방법은 (1) 신경정신 장애를 가진 개인을 진단하는 단계, (2) 개인의 신경정신 장애를 치료하는 과정을 개발하는 단계, 및 (3) 개인의 신경정신 장애를 치료하는 상기 과정 중 적어도 일부로서 개인에게 물질을 투여하는 단계를 포함한다. 이 측면에서, 물질은 덱스트로메타돈, 덱스트로메타돈 대사물, d-메타돌, d-알파-아세틸메타돌, d-알파-노르메타돌, l-알파-노르메타돌, 및 약학적으로 허용가능한 이들의 염으로부터 선택될 수 있다. 치료되는 신경정신 장애는 주요 우울 장애, 지속성 우울 장애, 파괴적 기분 조절 장애, 월경전 불쾌 장애, 산후 우울 장애, 양극성 장애, 경조증 및 조증 장애, 범불안 장애, 사회 불안 장애, 신체 증상 장애, 사별 우울 장애, 적응 우울 장애, 외상 후 스트레스 장애, 강박 장애, 만성 통증 장애, 약물 사용 장애, 및 과민성 방광 장애로부터 선택될 수 있다 (그러나, 그에 제한되지 않는다).

[0034] 본 발명의 이 측면의 한 실시예는 (1) MDD를 가진 개인을 진단하는 단계, (2) 개인의 MDD를 치료하는 과정을 개발하는 단계, 및 (3) 개인의 MDD를 치료하는 과정 중 적어도 일부로서 개인에게 덱스트로메타돈을 투여하는 단계를 포함하는 MDD를 치료하는 방법을 포함할 수 있다.

[0035] 본 발명의 또 다른 측면은 신경정신 장애를 치료하는 방법에 관한 것으로, 그 방법은 NMDAR 서브유닛, AMPAR 서브유닛, 또는 신경 가소성 및 조립된 NMDAR 채널에 기여하는 다른 시냅스 단백질의 피시험자에서 합성 및 막 발

현을 유도하는 단계를 포함한다. 피시험자는, 이 측면에서, 신경정신 장애를 앓고 있다 (이러한 신경정신 장애의 예로는 주요 우울 장애, 지속성 우울 장애, 파괴적 기분 조절 장애, 월경전 불쾌 장애, 산후 우울 장애, 양극성 장애, 경조증 및 조증 장애, 범불안 장애, 사회 불안 장애, 신체 증상 장애, 사별 우울 장애, 적응 우울 장애, 외상 후 스트레스 장애, 강박 장애, 만성 통증 장애, 약물 사용 장애, 및 과민성 방광 장애가 포함된다). 본 발명의 이 측면에서, NMDAR 서브유닛, AMPAR 서브유닛, 또는 신경 가소성에 기여하는 다른 시냅스 단백질의 합성을 유도하는 단계는 d-메타돈, d-메타돈 대사물, d-메타돌, d-알파-아세틸메타돌, d-알파-노르메타돌, l-알파-노르메타돌, 및 약학적으로 허용가능한 이들의 염으로부터 선택된 물질을 피시험자에게 투여함으로서 달성된다.

[0036] 본 발명의 또 다른 측면은 이온 채널의 기능장애를 특징으로 하는 질병 또는 장애를 치료하는 방법에 관한 것으로, 그 방법은 (1) 이온 채널의 기능장애를 특징으로 하는 질병 또는 장애를 가진 개인을 진단하는 단계, (2) 개인의 질병 또는 장애를 치료하는 과정을 개발하는 단계로, 여기서 질병 또는 장애를 치료하는 과정은 이온 채널의 기능장애의 해결을 포함하는 단계, 및 (3) 이온 채널의 기능장애을 해결하는 과정 중 적어도 일부로서 개인에게 물질을 투여하는 단계를 포함한다. 물질은 덱스트로메타돈, 덱스트로메타돈 대사물, d-메타돌, d-알파-아세틸메타돌, d-알파-노르메타돌, l-알파-노르메타돌, 및 약학적으로 허용가능한 이들의 염으로부터 선택될 수 있다.

[0037] 본 발명의 또 다른 측면은 병리학적으로 과활성된 NMDAR 채널에 의해 유발, 악화, 또는 유지되는 질환으로 장애를 진단하는 방법에 관한 것이다. 이 측면의 방법은 신경 장애, 신경정신 장애, 안과 장애, 이비인후과 장애, 대사 장애, 골다공증, 비뇨생식기 장애, 신장 장애, 불임, 조기 난소 부전, 간 장애, 면역 장애, 종양 장애, 심혈관 장애로부터 선택된 불명확한 병태생리 장애 중 적어도 하나의 장애로 진단된 피시험자에게 조성물을 투여하는 단계를 포함한다. 조성물은 덱스트로메타돈, 덱스트로메타돈 대사물, d-메타돌, d-알파-아세틸메타돌, d-알파-노르메타돌, l-알파-노르메타돌, 및 약학적으로 허용가능한 이들의 염으로부터 선택된 물질을 포함한다. 이어서, 조성물의 투여 전후에 각각의 장애에 대해 특정한 엔드포인트(endpoint)를 측정함으로서 적어도 하나의 장애에서 조성물의 유효성을 결정하고, 피시험체가 특정한 엔드포인트의 개선을 나타내는 경우 병리학적으로 과활성된 NMDAR 채널에 의해 유발, 악화, 또는 유지되는 장애로 피시험자를 진단한다. 엔드포인트는 특정한 장애에 특이될 수 있으므로, 조성물의 투여에 이어지는 엔드포인트의 측정은 진단되는 특정한 장애를 결정하도록 허용한다.

[0038] 상기에 설명된 결정을 기반으로, 특정 뇌 세포에서 NMDAR을 통한 과도한 Ca^{2+} 유입으로 인한 장애를 진단하는 것이 가능하다. 장애는 신경 장애, 신경정신 장애, 안과 장애, 이비인후과 장애, 대사 장애, 골다공증, 과민성 방광 장애를 포함한 비뇨생식기 장애, 신장 장애, 불임, 조기 난소 부전, 간 장애, 면역 장애, 종양 장애, 부정맥, 심부전 및 협심증을 포함한 심혈관 장애, 염증성 장애, 및 병리학적으로 과활성화된 NMDAR에 의해 유발, 유지, 또는 악화되는 다른 질병과 장애로부터 선택될 수 있다.

[0039] 본 발명의 이러한 측면 및 다른 측면을 지원하기 위해, 본 발명자는 이제 덱스트로메타돈이 MDD-유효 복용량에서 인지 부작용 없이, MDD에 대해 (따라서 잠재적으로 다른 신경정신 장애 및 TRD에 대해), 큰 효과 크기와 함께 신속하고, 강력하고, 지속적이고, 통계적으로 의미있는 효능을 가짐을 처음으로 개시한다. 이를 입증하는 논의 및 데이터는 이후 예시에서 (특히, 예시 3에서) 나타나고, 본 출원의 예시에서의 데이터는 단지 덱스트로메타돈이 MDD와 같은 신경정신 장애에 질병-조절 효과를 가질 수 있다는 결론을 허용한다. 본 발명자는 또한 덱스트로메타돈이 부작용 없이, 또한 금단 또는 반동의 증거 없이 이러한 지속적인 치료 반응을 유도하여, 이전에 인식되지 않은 특정한 질병-조절 작용 메카니즘을 시사함을 결정하였다.

[0040] 덱스트로메타돈이 MDD 및/또는 TRD 진단을 받은 환자에 대해, 큰 효과 크기와 함께 신속하고, 강력하고, 지속적이고, 통계적으로 의미있는 효능을 갖는다는 본 발명자의 새로운 발견 및 개시와 관련하여: 이후 더 상세히 설명될 바와 같이, 본 발명자는 덱스트로메타돈이 위약으로 무작위 선택된 환자에서 5%의 관해 비율과 비교해, 이전의 항우울제 치료에 실패한 환자의 30% 이상에서 질병의 완화를 유도할 수 있음을 나타내는 이중-맹검, 위약-조절, 전향적, 무작위, 임상 시험을 개시한다 (질병 관해는 10 이하의 MADRS 스코어로 정의되고; MADRS 등급 스케일은 우울한 기분을 측정할 뿐만 아니라 동기, 인지-집중력, 수면, 식욕, 사회적 능력, 및 자살 위험에 대한 척도를 제공한다). 또한, 이러한 관해는 치료 첫 주 내에 발생했고, 빠르면 2일차에 개선이 나타났으며 4일차에 통계적인 유의성에 도달하였다. 특히, 관해는 치료 중단 이후 적어도 1주일 동안 지속되었고, 일부 환자의 경우 더 오래 지속되었다. 예시 3에 설명된 임시 스케일로 정확하게 측정된 바와 같이, 금단 또는 심지어 반동 징후 또는 증상이 존재하지 않았다.

[0041] 일반적으로 (상기에 설명된 바와 같이), 만성 질환에 대한 증상 약물의 효과는 약물 중단 이후에 (특히, 갑작스러운 중단 이후) 급격히 감소하거나 갑자기 중단되고; 증상 약물의 갑작스러운 중단은 금단 증상 및 징후의 현상, 심지어 증상의 증대를 (즉, 사전-치료 기준선과 비교하여 증상의 악화) 초래할 수 있다. 이와 대조적으로, 본 발명자는 이제 덱스트로메타돈으로부터의 개선이 치료 주기의 완료 시에 지속되어, 덱스트로메타돈의 질병-조절 효과를 처음으로 시사함을 발견하였다. MDD 환자에서 덱스트로메타돈에 의해 유도된 관해가 치료 중단 이후에도 지속된다는 사실은 덱스트로메타돈의 작용이 순전히 증상적인 것이 아니라는 신호이다. 즉, 덱스트로메타돈은 단순히 약물의 중단 시 사라지는 효과인 환자의 기분을 좋게하는 것이 아니다 (예를 들어, 아편유사제나 알코올을 사용하고 현재 승인된 모든 표준 항우울제를 사용하는 경우에 일어나는 것과 같은). 따라서, 이러한 질병 완화의 지속성은 단순한 증상적 치료라기보다는, 덱스트로메타돈에 대해 이전에 인식되지 않은 질병-조절 작용 메카니즘을 (예를 들어, 치료 중단 이후에도 지속되는 신경 가소성의 조절에 대한 주요 효과) 시사한다.

[0042] 본 발명자에 의한 이러한 발견은 MDD의 치료적 질병-조절 치료, 뿐만 아니라 다른 신경정신 질병에 대해 (증상적 치료와 반대되는) 덱스트로메타돈을 사용하는 것에 관련된 본 발명의 측면을 생성한다. 상기에 설명된 바와 같이, 고립된 증상의 치료가 반드시 신경정신 장애의 경과에 영향을 미칠 것으로 예상되는 것은 아니다. 신경정신 장애에 대한 유전적 + 환경적 패러다임(G+E)은 점차 더 복잡해지고 있다. 지금까지 100개 이상의 독립적인 유전자 변이가 MDD 발병 위험 증가와 관련이 있었다 (Howard DM 등, 2019). 이러한 변이 중 일부는 NMDAR을 포함한 이온 채널에서의 유전적 이상을 포함할 수 있다. 또한, MDD와 TRD는 염증 상태와 관련이 있는 것으로 밝혀졌다 [Milenkovic VM, Stanton EH, Nothdurfter C, Rupprecht R, Wetzel CH, 주요 우울 장애의 병태생리에서 케모카인의 역할 (The Role of Chemokines in the Pathophysiology of Major Depressive Disorder), Int J Mol Sci. 2019; 20(9):2283; Ho 등, 2017]. 염증을 조절함으로서, 덱스트로메타돈은 장애의 경과에 영향을 미칠 수 있다 (즉, 현재 본 발명자에 의해 처음으로 설명된 질병/장애-조절 효과를 나타낸다).

[0043] MDD는 근심 전전두엽 피질(mPFC) 및 해마를 포함한 선택된 뇌 영역에서 신경 손실 및 위축과 관련이 있고 (Kempton 등, 2011), 변경된 신경 회로와 관련이 있다 (Korgaonkar 등, 2019). 또한, MDD는 심혈관 위험 증가, 암, 및 비만과 연관된다 (Howard 등, 2019). 이와 같이 연관된 또한/또는 관련된 질병, 전신 염증의 실험실 지표, 및 상기에 언급한 구조적 뇌 변화를 (뉴런 위축 및 세포자멸사) 시사하는 영상은 순전히 증상 치료로 개선될 가능성이 없다. 관련된 질병, 면역학적 이상, 및 구조적 CNS 결손을 (가역적 신경 회로 오류의 수준 또는 비가역적 신경세포 사멸의 수준 모두에서) 포함하여 상기의 모든 것은 이후 예시에 도시된 데이터에 의해 (특히, 예시 3에서 도시되고 논의되는 데이터에서) 강력하게 이제 시사되는 바와 같이, 대신에 덱스트로메타돈과 같은 질병-조절 치료에 의해 개선되거나 치료될 수 있다.

[0044] 또한, 다수의 다른 내인성 신경전달물질/수용체 시스템으로, 하나의 신경전달물질 시스템의 (또는 소수의 신경전달물질 시스템의) 조작이 기능장애 회로의 기능을 조절할 수 있고, 이러한 조절은 현재 임상에서 사용되는 일부 약물에 대해 가정된 바와 같이 표적 증상을 개선할 수 있다. 그러나, 약물이 그 회로의 기능장애의 주요 원인에 작용할 가능성은 낮으므로 (예를 들면, NMDAR 과활성), 생리적 세포 및 회로 기능을 회복할 가능성이 낮다. 다른 말로 하면, 장애를 유발하고 유지한 기능장애 세포는 주변 신경전달물질 수준의 변화에도 불구하고 계속 기능장애를 일으키게 된다 (이는 증가된 신경전달물질 수준에 의해 트리거되는 바이오피드백 메카니즘 때문이다; 따라서, 이러한 증상 치료는, 초기에는 분명히 도움이 되지만, 궁극적으로 개선되어야 하는 질병이나 장애를 악화시킬 수 있다). 상기에 설명된 바와 같이, 플루옥세틴 및 MDD에 대한 SSRI로 분류되는 다른 약물은 세로토닌/5-HT 수용체 시스템에 대한 이러한 신경전달물질 경로 조절 약물의 예이다. 임상 시험에서, 이들은 일반적으로 약한 효과 크기 및 지연되고 때로 불완전하고 또한/또는 지속되지 않는 효능을 나타낸다 (또한, SSRI의 중단 시, 환자는 신경전달물질 농도와 이러한 신경전달물질에 의해 조절되는 경로에 직접적인 영향을 미치는 대부분의 약물에서 발생하는 것처럼, 금단 증상을 경험할 가능성이 있다). 따라서, 설명된 바와 같이, 이러한 현재 치료법은 질병-조절 효과를 나타내지 않는다. 그러나, 더 효과적인 치료법이 발견되거나 공개되지 않았기 때문에 현재까지 종래 기술에 숙련된 자는 이러한 약물을 계속 사용하고 있다.

[0045] 그러나, 여기서 설명되는 새로운 데이터를 기반으로, 본 발명자는 이제 보조 치료로서 또는 단독 요법으로서 덱스트로메타돈의 잠재적인 치료 효과를 개시할 수 있다. 그와 관련하여, 본 발명자는 덱스트로메타돈의 효과가 MDD 및 동시 항우울 치료를 받는 환자에서 매우 강력하여, MDD와 연관된 CNS 이상 뿐만 아니라 MDD 치료와 연관될 가능성이 있는 CNS 이상에 대해서도 덱스트로메타돈의 잠재적인 치유 작용을 시사함을 개시한다. 다른 말로 하면, 병리학적으로 과활성된 NMDAR을 갖는 선택된 뉴런에서 과도한 Ca^{2+} 유입에 대하여 덱스트로메타돈에 의해 수행되는 하향-조절은 동시 신경약리학적 치료가 있든 없든, NMDAR의 과활동성이 항우울제 치료를 포함하여 다

양한 유발 요인에 대해 일차적이거나 이차적인 장애 또는 질병에서 발생할 가능성이 높다.

[0046] 이후의 예시에서 제시된 본 발명자의 연구 결과에 비추어, 본 발명자는 덱스트로메타돈이 항우울제 치료를 받는 (또한 이러한 치료에 부적절한 반응을 갖는) 환자에서 MDD에 대한 질병-조절 치료제로서 사용될 수 있음을 개시하고, 또한 과도한 Ca^{2+} 유입에 대한 덱스트로메타돈의 선택적 조절 작용이 CNS 신경전달물질 경로를 잠재적으로 변경할 수 있는 치료를 아직 받지 않은 환자에게 유용할 수 있음을 개시한다 (초기 질병-조절 치료제로서의 덱스트로메타돈, 즉, 신경정신 장애에 대한 덱스트로메타돈 단독 요법). 또한, 본 발명자는 덱스트로메타돈 및 행동 심리 요법이 MDD 및 관련 장애의 치료에 성공적으로 조합될 수 있음을 개시한다: 예를 들어, 특정한 환자는 과도한 NMDAR 활성을 하향 조절한 이후에만 (즉, 과도한 Ca^{2+} 유입이 있는 병리학적으로 개방된 NMDAR 채널을 하향 조절한 이후에) 심리 요법을 수용할 수 있다.

[0047] 본 발명자가 NMDAR 이온 채널 조절제로서 덱스트로메타돈 요법의 완전한 잠재력을 밝혀내는 것은 MDD를 포함한 다양한 신경정신 질환 및 장애에 대한 분자적 이해의 패러다임 전환을 나타내므로, 다양한 장애 및 질병의 치료를 위해, 치료 예방 및 진단 임상과 연구 장비를 현재 이용가능한 증상적 신경정신 약물을 넘어서 분자 병태생리를 다루는 질병 조절 약물로 확장시킨다. 선택된 CNS 회로의 (또는 추가 CNS 조직) 일부인 세포에서 (뉴런 또는 다른 세포) 과도한 Ca^{2+} 유입을 하향 조절하면 세포가 기능을 회복하고 신경전달물질 합성의 양 (또한 다른 시냅스 및 시냅스 이외의 단백질) 및 그들의 막 발현 (시냅스 스캐폴딩 및 프레임워크을 포함하는) 및/또는 방출을 (예를 들면, BDNF를 포함하는 NGF) 자동조절하게 허용된다.

[0048] 이러한 미세 조절은 신경전달물질 또는 선택된 수용체에 대한 작용제/길항제 약물이 (예를 들면, 도파민의 작용제, GABA, 아편유사제 수용체) 약물에 의해 직접 조절될 때 사실상 불가능하다. 수용체를 직접적으로 표적화하는 약물은 많은 증상의 급성 치료에 매우 효과적일 수 있고 (예를 들어, 급성 통증에 대한 아편유사제, 공황 발작에 대한 벤조디아제핀, 및 정신병적 사건에 대한 도파민 차단제), 그들의 단기 부작용이 잘 이해되어 수용되지만, 이러한 동일한 약물은 덜 효과적이고 장기적인 효과에 대한 이해도와 예측가능성도 낮으므로, 이러한 약물의 사용은 질병을 치료하는데 실패할 뿐만 아니라 치료가 만성적일 때 해로울 수 있다. 만성 통증에 대한 아편유사제, 또는 불안이 현저한 만성 장애에 대한 (예를 들면, GAD, PTSD, OCD) 벤조디아제핀, 또는 정신병 상태의 만성 관리를 위한 도파민 차단제를 사용한 만성 치료는 일반적으로 주요 장애의 악화를 포함하여, 심각하고 때로는 돌이킬 수 없는 부작용을 초래한다. 여기서 본 발명자에 의해 개시되는 덱스트로메타돈에 관한 새로운 데이터 및 여기서 새롭게 밝혀진 덱스트로메타돈의 작용 메카니즘은 MDD, MDD 관련 장애, 다른 신경정신 질환, 및 추가 CNS 질환과 같은 장애의 더 나은 표적 치료를 허용한다.

[0049] 본 출원의 이러한 장점 및 다른 장점은 이후의 도면 및 상세한 설명을 참조로 종래 기술에 숙련된 자에게 명백해질 것이다.

도면의 간단한 설명

[0050] 본 명세서에 포함되고 그 일부를 구성하는 첨부 도면은 본 발명의 실시예를 예시하고, 상기에 주어진 발명의 일반적인 설명 및 이후에 주어지는 실시예의 상세한 설명과 함께, 본 발명의 원리를 설명하는 역할을 한다.

도 1은 세포 라인 GluN2A, GluN2B, GluN2C, 및 GluN2C에 대한 10μM 글리신 존재하의 L-글루타민산 CRC를 나타내는 그래프이다. 데이터는 평균 ± SEM, n=5로 보고된다.

도 2A는 GluN2A에 대한 100nm L-글루타메이트 효과를 나타내는 그래프이다.

도 2B는 GluN2B에 대한 100nm L-글루타메이트 효과를 나타내는 그래프이다.

도 2C는 GluN2C에 대한 100nm L-글루타메이트 효과를 나타내는 그래프이다.

도 2D는 GluN2D에 대한 100nm L-글루타메이트 효과를 나타내는 그래프이다.

도 2E는 GluN2C에 대한 100nm L-글루타메이트 효과를 나타내는 그래프이다 (낮은 발현 수준을 갖는 세포).

도 3A는 수용체 유형 GluN1-GluN2A에서 L-글루타메이트 농도 반응 곡선(CRC)에 대한 덱스트로메타돈의 효과를 나타내는 그래프이다.

도 3B는 수용체 유형 GluN1-GluN2B에서 L-글루타메이트 CRC에 대한 덱스트로메타돈의 효과를 나타내는 그래프이다.

도 3C는 수용체 유형 GluN1-GluN2C에서 L-글루타메이트 CRC에 대한 덱스트로메타돈의 효과를 나타내는 그래프이다.

도 3D는 수용체 유형 GluN1-GluN2D에서 L-글루타메이트 CRC에 대한 덱스트로메타돈의 효과를 나타내는 그래프이다.

도 4A는 수용체 유형 GluN1-GluN2A에서 L-글루타메이트 CRC에 대한 메만틴의 효과를 나타내는 그래프이다.

도 4B는 수용체 유형 GluN1-GluN2B에서 L-글루타메이트 CRC에 대한 메만틴의 효과를 나타내는 그래프이다.

도 4C는 수용체 유형 GluN1-GluN2C에서 L-글루타메이트 CRC에 대한 메만틴의 효과를 나타내는 그래프이다.

도 4D는 수용체 유형 GluN1-GluN2D에서 L-글루타메이트 CRC에 대한 메만틴의 효과를 나타내는 그래프이다.

도 5A는 수용체 유형 GluN1-GluN2A에서 L-글루타메이트 CRC에 대한 (±)-케타민의 효과를 나타내는 그래프이다.

도 5B는 수용체 유형 GluN1-GluN2B에서 L-글루타메이트 CRC에 대한 (±)-케타민의 효과를 나타내는 그래프이다.

도 5C는 수용체 유형 GluN1-GluN2C에서 L-글루타메이트 CRC에 대한 (±)-케타민의 효과를 나타내는 그래프이다.

도 5D는 수용체 유형 GluN1-GluN2D에서 L-글루타메이트 CRC에 대한 (±)-케타민의 효과를 나타내는 그래프이다.

도 6A는 수용체 유형 GluN1-GluN2A에서 L-글루타메이트 CRC에 대한 (±)-MK801의 효과를 나타내는 그래프이다.

도 6B는 수용체 유형 GluN1-GluN2B에서 L-글루타메이트 CRC에 대한 (±)-MK801의 효과를 나타내는 그래프이다.

도 6C는 수용체 유형 GluN1-GluN2C에서 L-글루타메이트 CRC에 대한 (±)-MK801의 효과를 나타내는 그래프이다.

도 6D는 수용체 유형 GluN1-GluN2D에서 L-글루타메이트 CRC에 대한 (±)-MK801의 효과를 나타내는 그래프이다.

도 7A는 수용체 유형 GluN1-GluN2A에서 L-글루타메이트 CRC에 대한 덱스트로메토르판의 효과를 나타내는 그래프이다.

도 7B는 수용체 유형 GluN1-GluN2B에서 L-글루타메이트 CRC에 대한 덱스트로메토르판의 효과를 나타내는 그래프이다.

도 7C는 수용체 유형 GluN1-GluN2C에서 L-글루타메이트 CRC에 대한 덱스트로메토르판의 효과를 나타내는 그래프이다.

도 7D는 수용체 유형 GluN1-GluN2D에서 L-글루타메이트 CRC에 대한 덱스트로메토르판의 효과를 나타내는 그래프이다.

도 8A는 수용체 아형 GluN2A, GluN2B, GluN2C, 및 GluN2D에서 4.6nM L-글루타메이트에 대한 덱스트로메타돈의 % 효과를 나타내는 그래프이다.

도 8B는 수용체 아형 GluN2A, GluN2B, GluN2C, 및 GluN2D에서 14nM L-글루타메이트에 대한 덱스트로메타돈의 % 효과를 나타내는 그래프이다.

도 8C는 수용체 아형 GluN2A, GluN2B, GluN2C, 및 GluN2D에서 41nM L-글루타메이트에 대한 덱스트로메타돈의 % 효과를 나타내는 그래프이다.

도 8D는 수용체 아형 GluN2A, GluN2B, GluN2C, 및 GluN2D에서 123nM L-글루타메이트에 대한 덱스트로메타돈의 % 효과를 나타내는 그래프이다.

도 8E는 수용체 아형 GluN2A, GluN2B, GluN2C, 및 GluN2D에서 370nM L-글루타메이트에 대한 덱스트로메타돈의 % 효과를 나타내는 그래프이다.

도 8F는 수용체 아형 GluN2A, GluN2B, GluN2C, 및 GluN2D에서 1.1㎛M L-글루타메이트에 대한 덱스트로메타돈의 % 효과를 나타내는 그래프이다.

도 8G는 수용체 아형 GluN2A, GluN2B, GluN2C, 및 GluN2D에서 3.3㎛M L-글루타메이트에 대한 덱스트로메타돈의 % 효과를 나타내는 그래프이다.

도 8H는 수용체 아형 GluN2A, GluN2B, GluN2C, 및 GluN2D에서 10㎛M L-글루타메이트에 대한 덱스트로메타돈의 % 효과를 나타내는 그래프이다.

도 8I는 수용체 아형 GluN2A, GluN2B, GluN2C, 및 GluN2D에서 100 μM L-글루타메이트에 대한 덱스트로메타돈의 % 효과를 나타내는 그래프이다.

도 8J는 수용체 아형 GluN2A, GluN2B, GluN2C, 및 GluN2D에서 1mM L-글루타메이트에 대한 덱스트로메타돈의 % 효과를 나타내는 그래프이다.

도 9A는 수용체 아형 GluN2A, GluN2B, GluN2C, 및 GluN2D에서 4.6nM L-글루타메이트에 대한 (±)-케타민의 % 효과를 나타내는 그래프이다.

도 9B는 수용체 아형 GluN2A, GluN2B, GluN2C, 및 GluN2D에서 14nM L-글루타메이트에 대한 (±)-케타민의 % 효과를 나타내는 그래프이다.

도 9C는 수용체 아형 GluN2A, GluN2B, GluN2C, 및 GluN2D에서 41nM L-글루타메이트에 대한 (±)-케타민의 % 효과를 나타내는 그래프이다.

도 9D는 수용체 아형 GluN2A, GluN2B, GluN2C, 및 GluN2D에서 123nM L-글루타메이트에 대한 (±)-케타민의 % 효과를 나타내는 그래프이다.

도 9E는 수용체 아형 GluN2A, GluN2B, GluN2C, 및 GluN2D에서 370nM L-글루타메이트에 대한 (±)-케타민의 % 효과를 나타내는 그래프이다.

도 9F는 수용체 아형 GluN2A, GluN2B, GluN2C, 및 GluN2D에서 1.1 μM L-글루타메이트에 대한 (±)-케타민의 % 효과를 나타내는 그래프이다.

도 9G는 수용체 아형 GluN2A, GluN2B, GluN2C, 및 GluN2D에서 3.3 μM L-글루타메이트에 대한 (±)-케타민의 % 효과를 나타내는 그래프이다.

도 9H는 수용체 아형 GluN2A, GluN2B, GluN2C, 및 GluN2D에서 10 μM L-글루타메이트에 대한 (±)-케타민의 % 효과를 나타내는 그래프이다.

도 9I는 수용체 아형 GluN2A, GluN2B, GluN2C, 및 GluN2D에서 100 μM L-글루타메이트에 대한 (±)-케타민의 % 효과를 나타내는 그래프이다.

도 9J는 수용체 아형 GluN2A, GluN2B, GluN2C, 및 GluN2D에서 1mM L-글루타메이트에 대한 (±)-케타민의 % 효과를 나타내는 그래프이다.

도 10A는 수용체 아형 GluN2A, GluN2B, GluN2C, 및 GluN2D에서 14nM L-글루타메이트에 대한 메만틴의 % 효과를 나타내는 그래프이다.

도 10B는 수용체 아형 GluN2A, GluN2B, GluN2C, 및 GluN2D에서 41nM L-글루타메이트에 대한 메만틴의 % 효과를 나타내는 그래프이다.

도 10C는 수용체 아형 GluN2A, GluN2B, GluN2C, 및 GluN2D에서 123nM L-글루타메이트에 대한 메만틴의 % 효과를 나타내는 그래프이다.

도 10D는 수용체 아형 GluN2A, GluN2B, GluN2C, 및 GluN2D에서 370nM L-글루타메이트에 대한 메만틴의 % 효과를 나타내는 그래프이다.

도 10E는 수용체 아형 GluN2A, GluN2B, GluN2C, 및 GluN2D에서 1.1 μM L-글루타메이트에 대한 메만틴의 % 효과를 나타내는 그래프이다.

도 10F는 수용체 아형 GluN2A, GluN2B, GluN2C, 및 GluN2D에서 3.3 μM L-글루타메이트에 대한 메만틴의 % 효과를 나타내는 그래프이다.

도 10G는 수용체 아형 GluN2A, GluN2B, GluN2C, 및 GluN2D에서 10 μM L-글루타메이트에 대한 메만틴의 % 효과를 나타내는 그래프이다.

도 10H는 수용체 아형 GluN2A, GluN2B, GluN2C, 및 GluN2D에서 100 μM L-글루타메이트에 대한 메만틴의 % 효과를 나타내는 그래프이다.

도 10I는 수용체 아형 GluN2A, GluN2B, GluN2C, 및 GluN2D에서 1mM L-글루타메이트에 대한 메만틴의 % 효과를 나타내는 그래프이다.

도 11A는 수용체 아형 GluN2A, GluN2B, GluN2C, 및 GluN2D에서 4.6nM L-글루타메이트에 대한 덱스트로메토르판의 % 효과를 나타내는 그래프이다.

도 11B는 수용체 아형 GluN2A, GluN2B, GluN2C, 및 GluN2D에서 14nM L-글루타메이트에 대한 덱스트로메토르판의 % 효과를 나타내는 그래프이다.

도 11C는 수용체 아형 GluN2A, GluN2B, GluN2C, 및 GluN2D에서 41nM L-글루타메이트에 대한 덱스트로메토르판의 % 효과를 나타내는 그래프이다.

도 11D는 수용체 아형 GluN2A, GluN2B, GluN2C, 및 GluN2D에서 123nM L-글루타메이트에 대한 덱스트로메토르판의 % 효과를 나타내는 그래프이다.

도 11E는 수용체 아형 GluN2A, GluN2B, GluN2C, 및 GluN2D에서 370nM L-글루타메이트에 대한 덱스트로메토르판의 % 효과를 나타내는 그래프이다.

도 11F는 수용체 아형 GluN2A, GluN2B, GluN2C, 및 GluN2D에서 1.1μM L-글루타메이트에 대한 덱스트로메토르판의 % 효과를 나타내는 그래프이다.

도 11G는 수용체 아형 GluN2A, GluN2B, GluN2C, 및 GluN2D에서 3.3μM L-글루타메이트에 대한 덱스트로메토르판의 % 효과를 나타내는 그래프이다.

도 11H는 수용체 아형 GluN2A, GluN2B, GluN2C, 및 GluN2D에서 10μM L-글루타메이트에 대한 덱스트로메토르판의 % 효과를 나타내는 그래프이다.

도 11I는 수용체 아형 GluN2A, GluN2B, GluN2C, 및 GluN2D에서 100μM L-글루타메이트에 대한 덱스트로메토르판의 % 효과를 나타내는 그래프이다.

도 11J는 수용체 아형 GluN2A, GluN2B, GluN2C, 및 GluN2D에서 1mM L-글루타메이트에 대한 덱스트로메토르판의 % 효과를 나타내는 그래프이다.

도 12A는 수용체 아형 GluN2A, GluN2B, GluN2C, 및 GluN2D에서 4.6nM L-글루타메이트에 대한 (±)-MK801의 % 효과를 나타내는 그래프이다.

도 12B는 수용체 아형 GluN2A, GluN2B, GluN2C, 및 GluN2D에서 14nM L-글루타메이트에 대한 (±)-MK801의 % 효과를 나타내는 그래프이다.

도 12C는 수용체 아형 GluN2A, GluN2B, GluN2C, 및 GluN2D에서 41nM L-글루타메이트에 대한 (±)-MK801의 % 효과를 나타내는 그래프이다.

도 12D는 수용체 아형 GluN2A, GluN2B, GluN2C, 및 GluN2D에서 123nM L-글루타메이트에 대한 (±)-MK801의 % 효과를 나타내는 그래프이다.

도 12E는 수용체 아형 GluN2A, GluN2B, GluN2C, 및 GluN2D에서 370nM L-글루타메이트에 대한 (±)-MK801의 % 효과를 나타내는 그래프이다.

도 12F는 수용체 아형 GluN2A, GluN2B, GluN2C, 및 GluN2D에서 1.1μM L-글루타메이트에 대한 (±)-MK801의 % 효과를 나타내는 그래프이다.

도 12G는 수용체 아형 GluN2A, GluN2B, GluN2C, 및 GluN2D에서 3.3μM L-글루타메이트에 대한 (±)-MK801의 % 효과를 나타내는 그래프이다.

도 12H는 수용체 아형 GluN2A, GluN2B, GluN2C, 및 GluN2D에서 10μM L-글루타메이트에 대한 (±)-MK801의 % 효과를 나타내는 그래프이다.

도 12I는 수용체 아형 GluN2A, GluN2B, GluN2C, 및 GluN2D에서 100μM L-글루타메이트에 대한 (±)-MK801의 % 효과를 나타내는 그래프이다.

도 12J는 수용체 아형 GluN2A, GluN2B, GluN2C, 및 GluN2D에서 1mM L-글루타메이트에 대한 (±)-MK801의 % 효과를 나타내는 그래프이다.

도 13A는 ARPE-19 세포에서 NMDAR1 서브유닛의 발현을 보여주는 사진이다.

도 13B는 ARPE-19 세포에서 NMDAR2A 서브유닛의 발현을 보여주는 사진이다.

도 13C는 ARPE-19 세포에서 NMDAR2B 서브유닛의 발현을 보여주는 사진이다.

도 14는 NMDAR 작용제 L-글루타메이트 단독 치료 (10mM L-Glu) 또는 덱스트로메타돈과 조합한 치료 이후에 ARPE-19 세포의 세포 생존율을 나타내는 그래프이다. ***P<0.001 대 비히클(vehicle)로 처리된 대조군 세포 (Tukey의 사후 테스트로 이어지는 일방 ANOVA).

도 15A는 NMDAR1 서브유닛의 단백질 발현을 나타내는 그래프이다 (대조군 = 미처리 세포; 급성 = 24-시간 처리; 만성 = 6-일 처리). 데이터는 평균 ± SEM으로 표현된다.

도 15B는 NMDAR2A 서브유닛의 단백질 발현을 나타내는 그래프이다 (대조군 = 미처리 세포; 급성 = 24-시간 처리; 만성 = 6-일 처리). 데이터는 평균 ± SEM으로 표현된다.

도 15C는 NMDAR2B 서브유닛의 단백질 발현을 나타내는 그래프이다 (대조군 = 미처리 세포; 급성 = 24-시간 처리; 만성 = 6-일 처리). 데이터는 평균 ± SEM으로 표현된다.

도 16은 다양한 글루타메이트 농도에서 NR1 서브유닛에 대한 가설 값을 나타내는 그래프이다.

도 17은 MDD 환자에서 2회 용량의 덱스트로메타돈에 대한 2상 연구에서 환자에 대한 스크리닝 및 투여 스케줄을 나타내는 개략도이다.

도 18은 일시적 이상 반응 - 전체 요약 안전 집단의 도표이다.

도 19A 및 도 19B는 조합되어 시스템 기관 등급에 의한 일시적 이상 반응 및 선호되는 기간 안전 집단의 도표를 제공한다.

도 20은 시스템 기관 등급에 의한 특수 관심의 부작용(adverse events of special interest, AESI) 및 선호되는 기간 안전 집단의 도표이다.

도 21은 임상의가 투여한 해리 상태 척도 점수의 도표이다.

도 22는 제1일에 용량 수준에 따른 (25mg 및 50mg) 덱스트로메타돈의 혈장 농도를 나타내는 그래프이다.

도 23은 용량 수준에 따른 (25mg 및 50mg) 덱스트로메타돈의 최저 혈장 농도 수준을 나타내는 그래프이다.

도 24는 2상 연구의 치료군에서 MADRS 점수가 제4일부터 제14일까지 위약에 비해 통계적으로 의미있는 차이를 달성했음을 보여주는 그래프이다.

도 25는 MADRS < 10 포인트로, 리미터(remitter)의 퍼센트를 나타내는 그래프이다.

도 26은 기준선으로부터 MADRS > 50% 감소를 갖는 응답자의 퍼센트를 나타내는 그래프이다.

도 27A는 GluN1 + GluN2A를 포함하는 이형체 재조합 인간 NMDAR을 발현하는 세포 라인에서 0.04 μM L-글루타메이트에 대한 10 μM 겐타마이신의 효과를 나타내는 그래프이다.

도 27B는 GluN1 + GluN2B를 포함하는 이형체 재조합 인간 NMDAR을 발현하는 세포 라인에서 0.04 μM L-글루타메이트에 대한 10 μM 겐타마이신의 효과를 나타내는 그래프이다.

도 27C는 GluN1 + GluN2C를 포함하는 이형체 재조합 인간 NMDAR을 발현하는 세포 라인에서 0.04 μM L-글루타메이트에 대한 10 μM 겐타마이신의 효과를 나타내는 그래프이다.

도 27D는 GluN1 + GluN2D를 포함하는 이형체 재조합 인간 NMDAR을 발현하는 세포 라인에서 0.04 μM L-글루타메이트에 대한 10 μM 겐타마이신의 효과를 나타내는 그래프이다.

도 28A는 GluN1 + GluN2A를 포함하는 이형체 재조합 인간 NMDAR을 발현하는 세포 라인에서 0.2 μM L-글루타메이트에 대한 10 μM 겐타마이신의 효과를 나타내는 그래프이다.

도 28B는 GluN1 + GluN2B를 포함하는 이형체 재조합 인간 NMDAR을 발현하는 세포 라인에서 0.2 μM L-글루타메이트에 대한 10 μM 겐타마이신의 효과를 나타내는 그래프이다.

도 28C는 GluN1 + GluN2C를 포함하는 이형체 재조합 인간 NMDAR을 발현하는 세포 라인에서 0.2 μM L-글루타메이트에 대한 10 μM 겐타마이신의 효과를 나타내는 그래프이다.

도 28D는 GluN1 + GluN2D를 포함하는 이형체 재조합 인간 NMDAR을 발현하는 세포 라인에서 0.2 μM L-글루타메이트에 대한 10 μM 겐타마이신의 효과를 나타내는 그래프이다.

도 29A는 GluN1 + GluN2A를 포함하는 이형체 재조합 인간 NMDAR을 발현하는 세포 라인에서 10μM L-글루타메이트에 대한 10μM 겐타마이신의 효과를 나타내는 그래프이다.

도 29B는 GluN1 + GluN2B를 포함하는 이형체 재조합 인간 NMDAR을 발현하는 세포 라인에서 10μM L-글루타메이트에 대한 10μM 겐타마이신의 효과를 나타내는 그래프이다.

도 29C는 GluN1 + GluN2C를 포함하는 이형체 재조합 인간 NMDAR을 발현하는 세포 라인에서 10μM L-글루타메이트에 대한 10μM 겐타마이신의 효과를 나타내는 그래프이다.

도 29D는 GluN1 + GluN2D를 포함하는 이형체 재조합 인간 NMDAR을 발현하는 세포 라인에서 10μM L-글루타메이트에 대한 10μM 겐타마이신의 효과를 나타내는 그래프이다.

도 30은 4개의 NMDA 수용체 아형 (GluN2A, GluN2B, GluN2C, 및 GluN2D) 각각에 대한 퀴놀린산 CRC 플롯을 나타내는 그래프이다.

도 31은 4개의 NMDA 수용체 아형 (GluN2A, GluN2B, GluN2C, 및 GluN2D) 각각에 대한 겐타마이신 CRC 플롯을 나타내는 그래프이다.

도 32A는 GluN2A를 사용하여, 10μM 글리신 존재하에, 100μM-1,000μM의 퀴놀린산과 10μM 덱스트로메타돈을 첨가한 퀴놀린산의 효과를 나타내는 그래프이다.

도 32B는 GluN2B를 사용하여, 10μM 글리신 존재하에, 100μM-1,000μM의 퀴놀린산과 10μM 덱스트로메타돈을 첨가한 퀴놀린산의 효과를 나타내는 그래프이다.

도 32C는 GluN2C를 사용하여, 10μM 글리신 존재하에, 100μM-1,000μM의 퀴놀린산과 10μM 덱스트로메타돈을 첨가한 퀴놀린산의 효과를 나타내는 그래프이다.

도 32D는 GluN2D를 사용하여, 10μM 글리신 존재하에, 100μM-1,000μM의 퀴놀린산과 10μM 덱스트로메타돈을 첨가한 퀴놀린산의 효과를 나타내는 그래프이다.

도 33A는 GluN2A를 사용하여, 10μM 글리신 존재하에, 40nM L-글루타메이트, 및 100μM 퀴놀린산 및/또는 10μM 덱스트로메타돈을 첨가한 L-글루타메이트의 효과를 나타내는 그래프이다.

도 33B는 GluN2B를 사용하여, 10μM 글리신 존재하에, 40nM L-글루타메이트, 및 100μM 퀴놀린산 및/또는 10μM 덱스트로메타돈을 첨가한 L-글루타메이트의 효과를 나타내는 그래프이다.

도 33C는 GluN2C를 사용하여, 10μM 글리신 존재하에, 40nM L-글루타메이트, 및 100μM 퀴놀린산 및/또는 10μM 덱스트로메타돈을 첨가한 L-글루타메이트의 효과를 나타내는 그래프이다.

도 33D는 GluN2D를 사용하여, 10μM 글리신 존재하에, 40nM L-글루타메이트, 및 100μM 퀴놀린산 및/또는 10μM 덱스트로메타돈을 첨가한 L-글루타메이트의 효과를 나타내는 그래프이다.

도 34A는 GluN2A를 사용하여, 10μM 글리신 존재하에, 40nM L-글루타메이트, 및 1,000μM 퀴놀린산 및/또는 10μM 덱스트로메타돈을 첨가한 L-글루타메이트의 효과를 나타내는 그래프이다.

도 34B는 GluN2B를 사용하여, 10μM 글리신 존재하에, 40nM L-글루타메이트, 및 1,000μM 퀴놀린산 및/또는 10μM 덱스트로메타돈을 첨가한 L-글루타메이트의 효과를 나타내는 그래프이다.

도 34C는 GluN2C를 사용하여, 10μM 글리신 존재하에, 40nM L-글루타메이트, 및 1,000μM 퀴놀린산 및/또는 10μM 덱스트로메타돈을 첨가한 L-글루타메이트의 효과를 나타내는 그래프이다.

도 34D는 GluN2D를 사용하여, 10μM 글리신 존재하에, 40nM L-글루타메이트, 및 1,000μM 퀴놀린산 및/또는 10μM 덱스트로메타돈을 첨가한 L-글루타메이트의 효과를 나타내는 그래프이다.

도 35A는 GluN2A를 사용하여, 10μM 글리신 존재하에, 200nM L-글루타메이트, 및 100μM 퀴놀린산 및/또는 10μM 덱스트로메타돈을 첨가한 L-글루타메이트의 효과를 나타내는 그래프이다.

도 35B는 GluN2B를 사용하여, 10μM 글리신 존재하에, 200nM L-글루타메이트, 및 100μM 퀴놀린산 및/또는 10μM 덱스트로메타돈을 첨가한 L-글루타메이트의 효과를 나타내는 그래프이다.

도 35C는 GluN2C를 사용하여, 10μM 글리신 존재하에, 200nM L-글루타메이트, 및 100μM 퀴놀린산 및/또는 10μM 덱스트로메타돈을 첨가한 L-글루타메이트의 효과를 나타내는 그래프이다.

도 35D는 GluN2D를 사용하여, 10μM 글리신 존재하에, 200nM L-글루타메이트, 및 100μM 퀴놀린산 및/또는 10μM 덱스트로메타돈을 첨가한 L-글루타메이트의 효과를 나타내는 그래프이다.

도 36A는 GluN2A를 사용하여, 10μM 글리신 존재하에, 200nM L-글루타메이트, 및 1,000μM 퀴놀린산 및/또는 10μM 덱스트로메타돈을 첨가한 L-글루타메이트의 효과를 나타내는 그래프이다.

도 36B는 GluN2B를 사용하여, 10μM 글리신 존재하에, 200nM L-글루타메이트, 및 1,000μM 퀴놀린산 및/또는 10μM 덱스트로메타돈을 첨가한 L-글루타메이트의 효과를 나타내는 그래프이다.

도 36C는 GluN2C를 사용하여, 10μM 글리신 존재하에, 200nM L-글루타메이트, 및 1,000μM 퀴놀린산 및/또는 10μM 덱스트로메타돈을 첨가한 L-글루타메이트의 효과를 나타내는 그래프이다.

도 36D는 GluN2D를 사용하여, 10μM 글리신 존재하에, 200nM L-글루타메이트, 및 1,000μM 퀴놀린산 및/또는 10μM 덱스트로메타돈을 첨가한 L-글루타메이트의 효과를 나타내는 그래프이다.

도 37A는 GluN2A를 사용하여, 10μM 글리신 존재하에, 1,000μM 퀴놀린산, 및 10g/ml 겐타마이신 및/또는 10μM 덱스트로메타돈을 첨가한 퀴놀린산의 효과를 나타내는 그래프이다.

도 37B는 GluN2B를 사용하여, 10μM 글리신 존재하에, 1,000μM 퀴놀린산, 및 10g/ml 겐타마이신 및/또는 10μM 덱스트로메타돈을 첨가한 퀴놀린산의 효과를 나타내는 그래프이다.

도 37C는 GluN2C를 사용하여, 10μM 글리신 존재하에, 1,000μM 퀴놀린산, 및 10g/ml 겐타마이신 및/또는 10μM 덱스트로메타돈을 첨가한 퀴놀린산의 효과를 나타내는 그래프이다.

도 37D는 GluN2D를 사용하여, 10μM 글리신 존재하에, 1,000μM 퀴놀린산, 및 10g/ml 겐타마이신 및/또는 10μM 덱스트로메타돈을 첨가한 퀴놀린산의 효과를 나타내는 그래프이다.

도 38A 내지 도 38H는 MDARS CFB의 산점도 플롯이고, 여기서 도 38A 내지 도 38D는 위약 또는 25mg의 덱스트로메타돈(REL-1017)으로 치료받은 환자의 제7일 및 제14일에서의 MDARS CFB의 산점도 플롯이고 (가로 막대는 중앙값(median)을 나타낸다); 도 38E 내지 도 38H는 위약 또는 50mg의 덱스트로메타돈(REL-1017)으로 치료받은 환자의 제7일 및 제14일에서의 MDARS CFB의 산점도 플롯이다 (가로 막대는 중앙값(median)을 나타낸다).

도 39는 테스트 항목 애플리케이션 프로토콜 다이어그램을 나타내는 차트이다.

도 40은 hGluN1/hGluN2C NMDAR을 통한 L-글루타메이트/글리신 유도 전류에 대한 시험 항목의 효과를 나타내는 그래프이다.

도 41은 hGluN1/hGluN2C-CHO 세포에서 기록된 샘플 전류를 도시하고, 10μM 덱스트로메타돈(좌측) 또는 1μM (±)-케타민(우측)이 존재할 때 또는 존재하지 않을 때 10/10μM L-글루타메이트/글리신을 첨가한 두개의 다른 세포로부터 기록된 대표적인 전류 추적을 나타낸다.

도 42는 10μM 덱스트로메타돈 처리 세포(좌측) 또는 1μM (±)-케타민 처리 세포(우측)에 대한 테스트 항목 온셋 및 오프셋 동역학 실험의 샘플 추적을 나타내는 그래프를 포함한다.

도 43은 테스트 항목 온셋 동역학 실험의 요약을 나타내는 그래프이고, 여기서 추적은 10μM 덱스트로메타돈 (중간선; 회색 음영), 10μM (±)-케타민 (하단선; 흑색 음영), 및 1μM (±)-케타민에 (상단선; 밝은 회색 음영) 대해 기록된 % 전류를 나타내고, 내부 검은선은 상대적은 피팅이다.

도 44는 실시예 6, 파트 I의 10μM 덱스트로메타돈(좌측 컬럼) 및 1μM (±)-케타민(우측 컬럼) 실험의 타우-온(tau-on)의 비교를 나타내는 그래프이다.

도 45는 테스트 항목 오프셋 동역학 실험의 요약을 나타내는 그래프이고, 여기서 추적은 10μM 덱스트로메타돈 (회색 음영), 1μM (±)-케타민 (흑색 음영), 및 10μM (±)-케타민 (밝은 회색 음영) 대해 기록된 % 전류를 나타내고, 내부 검은선은 상대적은 피팅이다.

도 46은 10μM 덱스트로메타돈(좌측 컬럼) 및 1μM (±)-케타민(우측 컬럼) 실험의 타우-온의 비교를 나타내는 그래프이다.

도 47은 세포내 덱스트로메타돈이 10/10μM L-글루타메이트/글리신 유도 전류를 조절하지 않았음을 입증하는 그래프이다.

도 48은 세포내 덱스트로메타돈이 세포외 덱스트로메타돈에 의한 전류 차단을 증가시키지 않았음을 입증하는 그

래프이다.

도 49는 테스트 항목 애플리케이션 프로토콜 다이어그램을 나타내는 차트이다.

도 50은 트래핑 분석에서 테스트 항목 샘플 추적의 효과를 나타내는 차트이다.

도 51A 내지 도 51C는 10 μM 덱스트로메타돈(도 51A 내지 도 51C에서 좌측 컬럼) 또는 1 μM (±)-케타민(도 51A 내지 도 51C에서 우측 컬럼)에 의해 생성된 블록(도 51A), 잔여 블록(도 51B), 및 블록 트랩(도 51C)을 나타내는 그래프이다. 값은 평균 ± sem으로 보고된다 (덱스트로메타돈의 경우 n = 13, (±)-케타민의 경우 n = 11). 페어링되지 않은 t-테스트가 실행되었다.

도 52A 내지 도 52C는 표준 식이, 서양 식이, 및 서양 식이 + d-메타돈을 통해 쥐 간에서 qRT-PCR에 의해 측정된 염증에 포함되는 사이토카인의 유전자 발현을 나타내는 그래프이다 [IL-6(도 52A), IL-10(도 52B), 및 CCL2(도 52C)]. **p<0.01, ***p<0.001 및 ****p<0.0001; Tukey의 사후 테스트로 이어지는 일방 ANOVA.

도 53A 내지 도 53C는 파라핀-포매된 간 슬라이스의 헤마톡실린-에오신 염색에 의한 간 조직의 조직학적 분석 결과의 사진으로, 표준 식이를 공급받은 쥐는 정상적인 간 구조를 나타내고 (도 53A), 전형적인 풍선 팽창과 함께 간 지방증을 유발하는 지질 축적은 서양식이를 공급받은 쥐에서 관찰되었고 (도 53B, 화살표), 지방증의 감소는 d-메타돈으로 처리된 쥐에서 관찰될 수 있음을 (도 53C) 설명한다. 10X로 확대된 사진.

도 54A 및 도 54B는 qRT-PCR에 의한 지질 대사에 포함되는 2개의 유전자의 [GPAT4(도 54A) 및 SREPB2(도 54B)] 발현을 나타내는 그래프이고, GPAT4와 SREPB2 모두의 유전자 발현은 서양 식이 투여에 의해 상당히 증가되었고 d-메타돈 치료는 이러한 발현을 현저하게 감소시킬 수 있음을 설명한다. *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001, 및 ****p<0.0001; Tukey의 사후 테스트로 이어지는 일방 ANOVA.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0051] 이후에는 본 발명의 하나 이상의 특정한 실시예가 설명된다. 이들 실시예의 간결한 설명을 제공하기 위한 노력으로, 실제 구현의 모든 특징이 본 명세서에서 설명되지 않을 수 있다. 임의의 엔지니어링 또는 설계 프로젝트에서와 같이, 실제 구현을 개발할 때, 시스템-관련 및 비즈니스-관련 제약 조건 준수와 같은 개발자의 특정한 목표를 달성하기 위해 수많은 구현-특정 결정이 이루어져야 하고, 이는 구현에 따라 변할 수 있음을 이해하여야 한다. 또한, 이러한 개발 노력은 복잡하고 시간이 소모될 수 있지만, 그럼에도 불구하고 본 개시의 이점을 갖는 종래 기술에 숙련된 자를 위한 설계, 제작 및 제조의 일상적인 사업이 될 것임을 이해하여야 한다.

[0052] 여기서 사용되는 바와 같이, 용어 덱스트로메타돈; 에스메타돈; REL-1017; S-메타돈; d-메타돈; 및 (+)-메타돈은 동일한 화학 분자를 정의하고 상호교환 가능하다.

[0053] 여기서 사용되는 바와 같이, "질병-조절" 치료 또는 "질병-조정" 가능성이 있는 치료는 병인 분자 메카니즘을 교정함으로서 질병의 경과를 유리하게 변경할 가능성이 있는 약물 치료를 포함한다. 그러므로, 질병-조절 치료는 잠재적으로 완치될 수 있다. 대조적으로, 증상 치료는 일반적으로 단지 일시적인 처방이고, 증상을 완화하지만 질병의 분자적 원인을 다루지는 않는다.

[0054] 덱스트로메타돈 및 MDD의 경우, 본 발명자는 적어도 환자의 서브세트에 대해, MDD가 특정한 CNS 세포에서, 예를 들어 엔돌핀 경로의 일부인 뉴런 또는 성상교세포에서 NMDAR을 통한 과도한 Ca^{2+} 유입에 의해 유발된다고 가설을 세운다. 이러한 CNS 세포에서의 과도한 Ca^{2+} 유입은 다양한 시냅스 단백질의 생산을 손상시키는 세포내 다운스트림 신호를 활성화한다. 이때, 이러한 시냅스 단백질의 비가용성은 신경 연결의 (예를 들어, 정서적 기억 형성에 필요한 신경 연결) 형성을 방해하고 MDD가 있는 사람에서 우울증 현상을 유발한다. 이 과도한 Ca^{2+} 진입은 휴지기 막 전위 동안 NR2c 및 NR2D 서브유닛을 포함하는 NMDAR 채널을 통해 우선적으로 일어난다 (GluN2c 및 GluN2D 서브유닛을 포함하는 강장성 및 병리학적 과활성 NMDAR).

[0055] 본 발명자에 의해 개시된 바와 같이, 덱스트로메타돈은 전압 의존성 NMDAR 채널 차단에서 Mg^{2+}와 유사하게 만드는 양전하를 운반하고, NMDAR의 기공에 자신을 삽입하여 (Mg^{2+}와 유사하게) 과도한 Ca^{2+} 유입을 하향-조절한다. 앞서 과도한 Ca^{2+} 유입을 생리학적 양으로 감소시키는 것은 다운스트림 신호전달을 활성화하여 선택된 뇌 회로에서 새로운 "건강한" 감정적 기억을 구성하기 위한 적절한 양의 시냅스 단백질 생성을 초래하게 된다. 따라서, MDD는 치료 분자 메카니즘을 통해 완화되고, 우울증의 고립된 증상에 영향을 미치는 대부분의 약물에 대해 이전

에 가정된 바와 같이 단순하게 예를 들어, 아편유사제 수용체 또는 세로토닌 수용체를 직접 작용시켜 증상을 완화하는 것이 아니다.

[0056] 따라서, 덱스트로메타돈은 MDD 및 관련 장애, 예를 들어 선택 회로의 세포 부분을 포함하고, 선택된 CNS 세포 집단에서 과도한 Ca^{2+}로 인해 유발되는 장애에 대해 잠재적으로 치유적이므로 질병을 조절하게 된다. MDD의 경우, 본 발명자는 엔돌핀 회로가 관련되고 덱스트로메타돈의 아편유사제 친화성이 엔돌핀 회로의 뉴런 부분에 의해 발현되는 NMDAR과 구조적으로 연관된 아편유사제 수용체로 (이중 수용체, 이종 수용체) 분자를 향하게 할 수 있음을 개시한다. 본 발명자에 의해 개시되는, 아편유사제 수용체에 대한 이러한 결합은 지금까지 종래 기술에 숙련된 자가 믿어왔던 바와 같은 전형적인 아편유사제 효과를 초래하지 않는다. 이전에 알려지지 않은 MDD-유효 용량에서 전형적인 아편유사제 효과의 결여는 이후의 예시에서 상세히 설명된 바와 같이, 이러한 아편유사제 수용체와 NMDAR의 구조적 연관성과 관련이 있다.

[0057] 여기서 사용되는 바와 같이, "기억"에는 인지 기억, 정서적 기억, 사회적 기억, 및 운동 기억이 포함된다. 용어 "기억", "학습", (LTP) + (LTD), "신경 가소성", ("척추 확대" + "척수 생성" + "시냅스 강화" + "신경돌기 성장" + 시냅스 전정) 및 "커넥톰(connectome)"는 여기서 상호교환가능하게 사용될 수 있다. 개별성과 자기-인식은 기억의 한 형태이다. MDD 및 관련 장애는 병적 감정 기억의 징후로 볼 수 있다

[0058] 여기서 사용되는 바와 같이, "시냅스 프레임워크"는 이온성 및 대사성 수용체를 포함하여 흥분성 및 억제성 수용체를 포함한 모든 수용체를 포함하는 뉴런 시냅스에 존재하는 모든 요소를 포함할 수 있다. 또한, 시냅스 전 뉴런의 시냅스 소포를 포함한다. 또한, 시냅스 후 밀도의 모든 요소를 포함한다. 또한, 접착 단백질을 포함하는 시냅스 틈새 분자를 포함한다.

[0059] 여기서 사용되는 바와 같이, "NMDAR 프레임워크"는 NMDAR 아형 상대 및 절대 밀도와 위치를 포함하여 글루타메이트 시스템의 모든 요소를 포함할 수 있다. 이는 시냅스 "핫스팟"의 프레임워크를 포함한다 (글루타메이트 방출 세포의 방출 글루타메이트 영역에 가장 가까운 글루타메이트 수용 세포 막에서의 100-200 나노몰 직경 영역). NMDAR 아형는 NR1-NR2A-D (예를 들어, NR1-2A-2B), 삼중-이성질체 NR1-2A-D-3 A-B (예를 들어, NR1-2D-3A 또는 NR1-NR3A-NR2C), 및 이중-이성질체 NR1-NR3A-B를 포함하는 삼중-이성질체와 NR1-2A-D 이중-이성질체를 포함할 수 있다. NMDAR 막 위치는 시냅스 (시냅스 전 및 시냅스 후), 시냅스 주변, 시냅스 외, 및 비-뉴런 막 위, 예를 들어, 성상교세포 또는 추가 CNS 세포 집단 위를 포함할 수 있다. 위치는 미세회로 및/또는 특정한 수용체 시스템을 (예를 들어, 엔돌핀 시스템) 포함하여, 뇌 및/또는 특정한 신경 회로 내의 특정한 영역을 칭할 수 있다. 일부 측면에서, NMDAR 프레임워크는 다른 글루타메이트 수용체를 (예를 들어, AMPAR 및 카이네이트 수용체와 대사성 NMDAR) 포함하도록 의도된다.

[0060] 여기서 사용되는 바와 같이, "양성 알로스테릭 조절제(PAM)" 및 "음성 알로스테릭 조절제(NAM)"는 내인성 및 외인성 이온과 분자을 칭하고, 이는 내인성 및 외인성 독소, 펩티드, 스테로이드 (호르몬 포함하는), 및 이온 채널의 개방, 특히 NMDAR의 개폐를 포함하여 그에 영향을 미칠 수 있는 약물과 물리적 및 화학적 자극을 포함한다. 겐타마이신은 NMDAR의 알로스테릭 조절제에 포함된다. PAM 및 NAM은 근접하여 결합할 때 비경쟁적일 수 있지만 작용제 부위에서는 그렇지 않을 수 있다. 또는, 덱스트로메타돈 및 여기서 설명된 다른 채널 기공 차단제의 경우와 같이, 작용제 부위에서 멀리 떨어진 부위에 결합할 때 비경쟁적일 수 있다.

[0061] 여기서 사용되는 바와 같이, "작용제 물질"은 NMDAR의 작용제 부위에 (NMDA 부위를 포함하여) 결합함으로서, NMDAR의 개폐를 비롯한 이온 채널의 개방에 영향을 미칠 수 있는 내인성 및 외인성 분자를 칭한다. 이러한 분자는 독소와 약물, 퀴놀린산과 같은 내인성 물질을 포함한다.

[0062] 여기서 사용되는 바와 같이, "후생유전학적 코드"는 NMDAR을 통해 정확하게 조절된 Ca^{2+} 유입의 차등 패턴으로 표현되는 후생유전학적 명령에 대한 코드를 칭하고 (일부가 Cam-CaMKII, CREB, 및 m-ToR 경로를 통해 매개될 수 있는), NMDAR은 NMDAR 프레임워크 자체의 조절을 (실시간 지속적인 자가-학습 패러다임에서, 조절자의 규제) 포함하여, 뉴런 커넥톰의 지속적인 재형성을 포함하는 세포 선택 번역, 합성, 단백질의 조립과 분화, 이동, 및 신경 가소성을 차례로 조절한다. NMDAR을 통한 Ca^{2+} 유입의 정확하고 끊임없이 변화하는 (이어지는 자극이 Ca^{2+} 유입의 다른 패턴을 결정하는) 양으로 구성된 이러한 후생유전학적 코드는 NMDAR 및 NMDAR 프레임워크가 있는 모든 종에 의해 공유된다. Ca^{2+} 유입의 이러한 차등 패턴은 NMDAR 프레임워크를 조절하고 차례로 그에 의해 조절된다. 코드는 (즉, Ca^{2+} 유입의 차등 패턴) 동일한 NMDAR 서브유닛 GluN1, GluN2A-D, 및 GluN3A-B, 또한 관련된 동형 및 잠재적 아형이 있는 종 내에서 공유된다. GluN3A-B 서브유닛은 글루타메이트 결합을 허용하지 않고 Ca^{2+}

에 대해 불투과성 또는 상대적으로 불투과성인 NMDAR 아형을 형성함으로서 LTP에 대한 제동 장치로 기능할 수 있다. 시냅스 프레임워크의 일부일 때, 이러한 아형은 Ca^{2+} 유입을 하향 조절하는 역할을 한다. 따라서, 세포(뉴런 및 비뉴런 세포) 활성은 특히, NMDAR 채널을 포함하는 다른 이온 채널을 통한 순 Ca^{2+} 유입에 의해 조절된다.

[0063] NMDAR 매개 Ca^{2+} 진입은 다음과 같은 다운스트림 신호전달 경로를 활성화한다: (1) Cam-CaMKII - GIT1 - βPIX-RAC1-PAK1 (액틴 리모델링 경로), (2) RAS-MEK-ERK1-2-CREB (환형 AMP-반응성 요소-결합 단백질(CREB)-매개 전사 유전자 발현 경로), (3) PI3K-AKT-REHB-mTOR [가소성-관련 단백질(PRP)의 라파마이신 (mTOR)-의존성 mRNA 번역의 기계적 표적], 및 (4) PRP 경로. 다른 다운스트림 효과 중에서, 이러한 경로 중 하나 이상의 활성화는 시냅스 유지와 척추 확대 및 기억 통합을 포함한 시냅스 조절을 매개한다.

[0064] 상기에 설명된 바와 같이, 고립된 정신의학 증상의 (우울증의 고립된 정신의학 증상과 같은) 치료는 앞서 설명되었지만, 아직까지 신경정신 장애에 (MDD 및 관련 장애와 같은) 대한 효과적인 질병-조절 치료법은 없다. 질병-조절 치료는 하나 이상의 정신의학 증상에 대한 증상 치료 이상의 약물을 요구한다. 본 발명자는 이제 배경기술에 기재된 문제를 해결한다. 그와 관련하여, 본 발명자는 이제 덱스트로메타돈이 MDD 환자에서 신속하고 강력하고 지속적인 잠재적 치료 효과를 예상치 못하게 유도함을 개시한다. 또한, 이러한 효과는 인지적 부작용이 없는 용량에서 달성된다. 이는 정신의학 증상의 증상 치료라기보다는 이전에 인식되지 않은 특정한 질병-조절 작용 메카니즘을 시사한다.

[0065] 따라서, 본 발명의 측면은 MDD 및 이러한 다른 장애에 대한 현재 치료의 문제를 감소 및/또는 제거한다. 일반적으로, 본 발명의 가장 중요한 측면은 MDD 및 다른 장애에 대한 질병-조절 치료를 제공한다. "질병-조절" 치료, 또는 "질병-조절" 가능성이 있는 치료는, 여기서 사용되는 바와 같이, 병인 메카니즘을 교정함으로서 질병의 경과를 유리하게 변경할 가능성이 있는 약물 치료를 포함한다. 그러므로, 질병-조절 치료는 잠재적으로 완치될 수 있다. 대조적으로, 증상적 치료는 일반적으로 단지 완화적이다 - 증상을 완화하지만, 질병의 분자적 원인을 직접적으로 다루지는 않는다.

[0066] 따라서, 본 발명의 한 측면은 신경정신 장애를 치료하는 방법에 관한 것으로, 그 방법은 신경정신 장애를 앓고 있는 피시험자에게 조성물을 투여하는 단계를 포함하고, 여기서 조성물은 d-메타돈, d-메타돈 대사물, d-메타돌, d-알파-아세틸메타돌, d-알파-노르메타돌, l-알파-노르메타돌, 및 약학적으로 허용가능한 이들의 염으로부터 선택되는 물질을 포함한다. 신경정신 장애는 (제한되지 않지만) 주요 우울 장애, 지속성 우울 장애, 파괴적 기분 조절 장애, 월경전 불쾌 장애, 산후 우울 장애, 양극성 장애, 경조증 및 조증 장애, 범불안 장애, 사회 불안 장애, 신체 증상 장애, 사별 우울 장애, 적응 우울 장애, 외상 후 스트레스 장애, 강박 장애, 만성 통증 장애, 약물 사용 장애, 과민성 방광 장애로부터 선택될 수 있다,

[0067] 본 발명의 또 다른 측면은 신경정신 장애를 치료하는 방법에 관한 것으로, 그 방법은 (1) 신경정신 장애를 가진 개인을 진단하는 단계, (2) 개인의 신경정신 장애를 치료하는 과정을 개발하는 단계, 및 (3) 개인의 신경정신 장애를 치료하는 상기 과정 중 적어도 일부로서 개인에게 물질을 투여하는 단계를 포함한다. 이 측면에서, 물질은 덱스트로메타돈, 덱스트로메타돈 대사물, d-메타돌, d-알파-아세틸메타돌, d-알파-노르메타돌, l-알파-노르메타돌, 및 약학적으로 허용가능한 이들의 염으로부터 선택될 수 있다. 치료되는 신경정신 장애는 (제한되지 않지만) 주요 우울 장애, 지속성 우울 장애, 파괴적 기분 조절 장애, 월경전 불쾌 장애, 산후 우울 장애, 양극성 장애, 경조증 및 조증 장애, 범불안 장애, 사회 불안 장애, 신체 증상 장애, 사별 우울 장애, 적응 우울 장애, 외상 후 스트레스 장애, 강박 장애, 만성 통증 장애, 약물 사용 장애, 및 과민성 방광 장애로부터 선택될 수 있다.

[0068] 본 발명의 이 측면의 한 실시예는 (1) MDD를 가진 개인을 진단하는 단계, (2) 개인의 MDD를 치료하는 과정을 개발하는 단계, 및 (3) 개인의 MDD를 치료하는 과정 중 적어도 일부로서 개인에게 덱스트로메타돈을 투여하는 단계를 포함하는 MDD를 치료하는 방법을 포함할 수 있다.

[0069] 본 발명의 또 다른 측면은 신경정신 장애를 치료하는 방법에 관한 것으로, 그 방법은 NMDAR 서브유닛, AMPAR 서브유닛, 또는 신경 가소성 및 조립되고 발현된 NMDAR 채널에 기여하는 다른 시냅스 단백질의 피시험자에서 합성을 유도하는 단계를 포함한다. 피시험자는, 이 측면에서, 신경정신 장애를 앓고 있다 (이러한 신경정신 장애의 예로는 주요 우울 장애, 지속성 우울 장애, 파괴적 기분 조절 장애, 월경전 불쾌 장애, 산후 우울 장애, 양극성 장애, 경조증 및 조증 장애, 범불안 장애, 사회 불안 장애, 신체 증상 장애, 사별 우울 장애, 적응 우울 장애, 외상 후 스트레스 장애, 강박 장애, 만성 통증 장애, 약물 사용 장애, 및 과민성 방광 장애가 포함된다). 본 발

명의 이 측면에서, NMDAR 서브유닛, AMPAR 서브유닛, 또는 신경 가소성에 기여하는 다른 시냅스 단백질의 합성을 유도하는 단계는 d-메타돈, d-메타돈 대사물, d-메타돌, d-알파-아세틸메타돌, d-알파-노르메타돌, l-알파-노르메타돌, 및 약학적으로 허용가능한 이들의 염으로부터 선택된 물질을 피시험자에게 투여함으로서 달성된다.

[0070] 본 발명의 또 다른 측면은 이온 채널의 기능장애를 특징으로 하는 질병 또는 장애를 치료하는 방법에 관한 것으로, 그 방법은 (1) 이온 채널의 기능장애를 특징으로 하는 질병 또는 장애를 가진 개인을 진단하는 단계, (2) 개인의 질병 또는 장애를 치료하는 과정을 개발하는 단계로, 여기서 질병 또는 장애를 치료하는 과정은 이온 채널의 기능장애의 해결을 포함하는 단계, 및 (3) 이온 채널의 기능장애를 해결하는 과정 중 적어도 일부로서 개인에게 물질을 투여하는 단계를 포함한다. 사용되는 물질은 덱스트로메타돈, 덱스트로메타돈 대사물, d-메타돌, d-알파-아세틸메타돌, d-알파-노르메타돌, l-알파-노르메타돌, 및 약학적으로 허용가능한 이들의 염으로부터 선택될 수 있다. 특정한 실시예에서, 이온 채널은 하나 이상의 NMDAR에 필수적이다. 특정한 실시예에서, 이온 채널은 Glun2C 서브유닛을 포함하는 NMDAR에 필수적이다. 특정한 실시예에서, 이온 채널은 Glun2D 서브유닛을 포함하는 NMDAR에 필수적이다. 특정한 실시예에서, 이온 채널은 Glun2B 서브유닛을 포함하는 NMDAR에 필수적이다. 특정한 실시예에서, 이온 채널은 Glun2A 서브유닛을 포함하는 NMDAR에 필수적이다. 특정한 실시예에서, 이온 채널은 Glun3A 서브유닛을 포함하는 NMDAR에 필수적이다.

[0071] 본 발명의 또 다른 측면은 병리학적으로 과활성된 NMDAR 채널에 의해 유발, 악화, 또는 유지되는 질환으로 장애를 진단하는 방법에 관한 것이다. 이 측면의 방법은 신경 장애, 신경정신 장애, 안과 장애, 이비인후과 장애, 대사 장애, 골다공증, 비뇨생식기 장애, 신장 장애, 불임, 조기 난소 부전, 간 장애, 면역 장애, 종양 장애, 심혈관 장애로부터 선택된 불명확한 병태생리학 중 적어도 하나의 장애로 진단된 피시험자에게 조성물을 투여하는 단계를 포함한다. 조성물은 덱스트로메타돈, 덱스트로메타돈 대사물, d-메타돌, d-알파-아세틸메타돌, d-알파-노르메타돌, l-알파-노르메타돌, 및 약학적으로 허용가능한 이들의 염으로부터 선택된 물질을 포함한다. 이어서, 조성물의 투여 전후에 각각의 장애에 대해 특정한 엔드포인트를 측정함으로서 적어도 하나의 장애에서 조성물의 유효성을 결정하고, 피시험체가 특정한 엔드포인트의 개선을 나타내는 경우 병리학적으로 과활성된 NMDAR 채널에 의해 유발, 악화, 또는 유지되는 장애로 피시험자를 진단한다. 엔드포인트는 특정한 장애에 특이될 수 있으므로, 조성물의 투여에 이어지는 엔드포인트의 측정은 진단되는 특정한 장애를 결정하도록 허용한다.

[0072] 특정한 실시예에서, 상기에 언급된 본 발명의 측면을 기반으로, 그 물질은 상기 신경정신 장애를 치료하기 위한 조성물에서 유일한 활성제이다.

[0073] 특정한 실시예에서, 상기에 언급된 본 발명의 측면을 기반으로, 그 물질은 거울상 이성질체로부터 분리되거나 새로 합성된다.

[0074] 특정한 실시예에서, 상기에 언급된 본 발명의 측면을 기반으로, 조성물의 투여는 물질이 피시험자의 NMDA 수용체에 결합하고 상기 신경정신 장애의 경과 및 중증도를 조절함으로서 피시험자를 완화시키는데 효과적인 조건하에서 일어난다. 특정한 실시예에서, 완화는 상기 신경정신 장애의 치료, 상기 신경정신 장애의 예방, 상기 신경정신 장애의 중증도 감소, 및 상기 신경정신 장애의 기간 감소로부터 선택된다.

[0075] 특정한 실시예에서, 상기에 언급된 본 발명의 측면을 기반으로, 조성물의 투여는 단일요법으로 일어난다.

[0076] 특정한 실시예에서, 상기에 언급된 본 발명의 측면을 기반으로, 조성물의 투여는 제2 물질에 대한 보조 치료의 일부로 일어난다.

[0077] 특정한 실시예에서, 상기에 언급된 본 발명의 측면을 기반으로, 조성물의 투여는 이온 채널, 신경전달물질 시스템, 신경전달물질 경로, 또는 이온성 글루타메이트 수용체, 5-HT2A 수용체, 5-HT2C 수용체, 아편유사제 수용체, AChR, SERT, NET, 시그마 1 수용체, K 채널, Na 채널, 및 Ca 채널로부터 선택되는 수용체에서의 작용에 효과적인 조건 하에서 일어난다. 특정한 실시예에서, 수용체는 아편유사제 수용체이고 MOR, KOR, 및 DOR로부터 선택된다. 다른 실시예에서, 조성물의 투여는 이온성 글루타메이트 수용체에서의 작용에 효과적인 조건 하에서 일어나고, 여기서 이온성 글루타메이트 수용체는 NMDAR이다. 다른 실시예에서, 이온성 글루타메이트 수용체에서의 작용은 세포막에 의해 발현되는 NMDAR의 전압 의존성 채널 차단을 포함한다. 다른 실시예에서, 이온성 글루타메이트 수용체에서의 작용은 NR2C 및 NR2D 서브유닛을 포함하는 NMDAR에 우선적인 영향을 미치는 세포막에 의해 발현되는 NMDAR의 전압 의존성 채널 차단을 포함한다. 또한, 다른 실시예에서, 이온성 글루타메이트 수용체에서의 작용은 신경 가소성에 기여하고 상기 시냅스 단백질의 막 발현에 기여하는 NMDAR 서브유닛 또는 다른 시냅스 단백질의 합성 유도를 포함한다.

[0078] 특정한 실시예에서, 상기에 언급된 본 발명의 측면을 기반으로, 피시험자는 척추동물이다. 또한, 특정한 실시예

에서, 척추동물은 인간이다.

[0079] 특정한 실시예에서, 상기에 언급된 본 발명의 측면을 기반으로, 그 물질은 덱스트로메타돈이다. 특정한 실시예에서, 덱스트로메타돈은 약학적으로 허용가능한 염의 형태이다. 특정한 실시예에서, 덱스트로메타돈은 0.1 mg 내지 5,000 mg의 총 일일 투여량으로 전달된다.

[0080] 특정한 실시예에서, 상기에 언급된 본 발명의 측면을 기반으로, 조성물의 투여는 피시험자에서 상기 신경정신 장애의 경과 및 중증도를 조절하고, 여기서 완화는 물질의 최초 투여 후 2주 이하, 물질의 최초 투여 후 7일 이하, 물질의 최초 투여 후 4일 이하, 또한 물질의 최초 투여 후 2일 이하 중에서 선택된 기간 내에 시작된다.

[0081] 특정한 실시예에서, 상기에 언급된 본 발명의 측면을 기반으로, 조성물 투여로 인한 덱스트로메타돈의 치료 효과가 2상 임상 시험에서 0.3 보다 크거나 같은 효과 크기, 2상 임상 시험에서 0.5 보다 크거나 같은 효과 크기, 또는 2상 임상 시험에서 0.7 보다 크거나 같은 효과 크기에 도달한다. 특정한 실시예에서, 치료 효과는 치료 중단 이후 최소 1주일 동안 지속된다. 특정한 실시예에서, 치료 중단 이후 치료 효과의 지속 시간은 치료 지속 기간 보다 크거나 같다.

[0082] 특정한 실시예에서, 상기에 언급된 본 발명의 측면을 기반으로, 조성물의 투여는 피시험자에 대한 하나 이상의 항우울제의 투여와 함께 또는 추가로 일어난다.

[0083] 특정한 실시예에서, 상기에 언급된 본 발명의 측면을 기반으로, 조성물의 투여는 피시험자에 대한 마그네슘, 아연, 또는 리튬 중 하나 이상의 투여와 함께 또는 추가로 일어난다.

[0084] 특정한 실시예에서, 상기에 언급된 본 발명의 측면을 기반으로, 피시험자는 체질량 지수가 35 이하이다.

[0085] 특정한 실시예에서, 상기에 언급된 본 발명의 측면을 기반으로, 조성물의 투여는 인지 기능 개선, 사회적 기능 개선, 수면 개선, 성 기능 개선, 직장 수행 능력 개선, 또는 사회적 활동에 대한 동기 개선에 사용된다.

[0086] 특정한 실시예에서, 상기에 언급된 본 발명의 측면을 기반으로, 조성물의 투여는 경구, 협측, 설하, 직장, 질, 비강, 에어로졸, 경피, 비경구, 정맥내, 피하, 경막외, 척수강내, 귀내, 안내 또는 국소적으로 수행된다.

[0087] 특정한 실시예에서, 상기에 언급된 본 발명의 측면을 기반으로, 조성물의 투여는 1일 0.01-1000 mg의 용량으로 이루어진다.

[0088] 특정한 실시예에서, 상기에 언급된 본 발명의 측면을 기반으로, 조성물의 투여는 1일 25 mg의 용량으로 이루어진다. 특정한 실시예에서, 상기에 언급된 본 발명의 측면을 기반으로, 조성물의 투여는 1일 50 mg의 용량으로 이루어진다.

[0089] 특정한 실시예에서, 상기에 언급된 본 발명의 측면을 기반으로, 조성물의 투여는 조성물의 부하 용량을 투여하고 이어서 조성물의 1일 용량을 투여하는 것을 포함한다.

[0090] 특정한 실시예에서, 상기에 언급된 본 발명의 측면을 기반으로, 조성물의 부하 용량은 조성물의 각 1일 용량에 존재하는 물질의 양 보다 많은 물질의 양을 포함한다.

[0091] 특정한 실시예에서, 상기에 언급된 본 발명의 측면을 기반으로, 안정 상태 보다 높거나 같은 혈장 수준은 조성물 투여 첫날에 도달한다. 특정한 실시예에서, 안정 상태 보다 높거나 같은 혈장 수준은 조성물 투여 4시간 내에 도달한다.

[0092] 특정한 실시예에서, 상기에 언급된 본 발명의 측면을 기반으로, 조성물 투여에 이어서, 피시험자에서 물질의 총 혈장 수준은 5ng/ml 내지 3000ng/ml의 범위이다.

[0093] 특정한 실시예에서, 상기에 언급된 본 발명의 측면을 기반으로, 조성물 투여에 이어서, 피시험자에서 물질의 비결합 수준은 0.5nM 내지 1,500nM이다.

[0094] 특정한 실시예에서, 상기에 언급된 본 발명의 측면을 기반으로, 조성물 투여에 이어서, 피시험자에서 물질의 비결합 수준은 0.1nM 내지 1,500nM의 범위이다.

[0095] 특정한 실시예에서, 상기에 언급된 본 발명의 측면을 기반으로, 조성물의 투여는 격일, 3일에 1회, 주 1회, 격주, 2주에 1회, 월 1주, 격월, 2개월에 1회, 3개월에 1회, 1년에 1주, 1년에 1개월에서 선택되는 간헐적인 치료 일정으로 일어난다.

[0096] 특정한 실시예에서, 상기에 언급된 본 발명의 측면을 기반으로, 조성물의 투여는 선택된 간헐적인 치료 일정에

서 위약과 교대로 이루어진다.

[0097] 특정한 실시예에서, 상기에 언급된 본 발명의 측면을 기반으로, 위약 대신에 또는 그에 추가하여, 방법은 마그네슘, 아연, 또는 리튬 중 하나 이상을 포함한다.

[0098] 특정한 실시예에서, 본 발명의 측면은 증상과 징후 및 기능과 장애 결과의 디지털 모니터링을 포함하여 장애의 경과를 모니터링하기 위한 디지털 애플리케이션과 추가로 연관될 수 있다.

[0099] 부가적으로, 본 발명자는 또한 덱스트로메타돈이 "서양 식이"의 쥐에서 NAFLD 및 잠재적으로 NASH를 감소시키고 염증 마커를 조절한다는 것을 본 출원에서 처음으로 개시한다 (이후 예시 11에 도시된 바와 같이). 본 발명자는 또한 덱스트로메타돈이 환자의 MDD 및 TRD와 관련된 바이오마커를 조절할 가능성이 있음을 본 출원에서 처음으로 개시한다 (이후 예시 7에 도시된 바와 같이).

[0100] 덱스트로메타돈이 MDD 및/또는 TRD 진단을 받은 환자에 대해 큰 효과 크기로 신속하고, 강력하고, 지속적이고, 통계적으로 의미있는 효능을 갖는다는 본 발명자의 발견과 관련하여 (여기서 개시되는): 이후에 더 상세히 설명될 바와 같이, 본 발명자는 덱스트로메타돈이 치료 첫 주 이내에, 위약으로 무작위 선택된 환자에서 5%의 관해 비율과 비교해, 환자의 30% 이상에서 질병의 관해를 유도할 수 있음을 (10 이하의 MADRS 점수로 정의되는) 나타내는 이중-맹검, 위약-조절, 전향적, 무작위 임상 시험을 개시한다. 특히, 관해는 치료 중단 이후 최소 1주일 동안 지속되었고, 일부 환자의 경우 더 오래 지속되었다. MADRS 등급 스케일은 우울한 기분을 측정할 뿐만 아니라 동기, 인지-집중력, 수면, 식욕, 사회적 능력, 및 자살 위험에 대한 척도를 제공한다.

[0101] 일반적인 규칙으로 (상기에 설명된 바와 같이), 약물 중단 이후에 (특히, 본 발명자에 의해 개시된 임상 시험의 경우와 같이, 갑작스러운 중단 이후) 만성 질환에 대한 증상 약물의 효과는 급격히 감소하거나 갑자기 중단되는 경향이 있고; 증상 약물의 갑작스러운 중단은 금단 증상 뿐만 아니라, 심지어 증상의 증대 현상을 (사전-치료 기준선과 비교하여 증상의 악화) 초래할 수 있다. 이와 대조적으로, 본 발명자는 이제 질병-조절 치료로부터의 개선이 (여기서 개신된 것과 같은) 치료 주기의 완료 시에 지속되는 경향이 있음을 발견하였다. MDD 환자에서 덱스트로메타돈에 의해 유도된 관해가 치료 중단 이후에도 지속된다는 사실은 덱스트로메타돈의 작용이 순전히 증상적인 것이 아니라는 신호이다 (즉, 덱스트로메타돈은 예를 들어, MDD에 대해 아편유사제나 알코올을 사용하는 경우에 일어나는 것과 같이, 단순히 약물의 중단 시 사라지는 효과인 환자의 기분을 좋게하는 것이 아니다). 따라서, 이러한 질병 관해의 지속성은 단순한 증상적 치료라기보다는 (이전에 생각했던 것처럼), 덱스트로메타돈에 대해 이전에 인식되지 않은 질병-조절 작용 메카니즘을 (예를 들어, 치료 중단 이후에도 지속되는 신경 가소성의 조절) 시사한다.

[0102] 또한, 본 발명자는 덱스트로메타돈의 이러한 질병-조절 효과를 설명하는 새로운 분자 메카니즘을 개시한다. 이러한 메카니즘은 이후 예시 1-11에서 더 상세히 설명된다.

[0103] 본 발명자는 2개의 다른 서브유닛, 2A 및 2B를 포함하는 NMDAR 아형의 차등 차단을 설명한다. 본 발명자는 이제 (1) 차등 NMDAR 차단이 테스트된 모든 NMDAR 아형 (아형 A, B, C 및 D), 특히 아형 C 및 D로 확장된다는 것과, (2) 차단이 글루타메이트의 농도에 의존하고 매우 낮은 농도의 글루타메이트에서도 활성화 상태인 것을 (시냅스 영역에서의 글루타메이트 농도는 자극의 강도와 타이밍; 글루타메이트 클리어런스 등을 포함한 여러 변수의 영향을 받는다) 결정하였다. 매우 낮은 농도의 글루타메이트도 특히 장기간 동안 세포외 공간에 존재하는 경우 (강장성 주변 글로타메이트) 다운스트림 결과를 초래할 수 있다. 이와 관련하여 본 발명자의 작업은 이후 예시 1에서 상세히 설명된다.

[0104] 예시 1은 또한 NMDAR 차단 활성이 알려진 시험된 모든 화합물 중에서 (테스트된 구성성분은 FDA에 의해 승인된 다른 NMDAR 채널 차단제 및 MK-801과 같은 실험 약물을 포함하였다) 본 발명자가 부작용 없이 그 효과를 설명할 수 있는 특성인, 덱스트로메타돈이 가장 낮은 효능과 가장 낮은 아형 선호도를 갖는다는 것을 개시한다. 또한, 본 발명자는 MK-801을 (심각한 인지 부작용으로 인해 임상적 용도가 없는 고친화성 NMDAR 차단제) 제외하고 임상 사용에서 테스트된 모든 화합물에 대해 GluN2C에 대한 선호도를 기술한다. 선택된 NMDAR 비경쟁 채널 차단제에 의해 공유되고 덱스트로메타돈에 대해 앞서 공개되지 않은 이러한 GluN2C 선호도는 이제 Ca^{2+} 유입의 차등 패턴의 다운스트림 효과 및 병리학적 상태에서 이 새로운 클래스의 약물의 잠재적 치료 효과에 대한 이해를 제공한다.

[0105] 예시 2는 (이후의) 덱스트로메타돈이 ARPE-19 망막 색소 세포에서 GluN1 mRNA를 유도한다는 것을 입증하고, 또한 덱스트로메타돈이 NMDAR을 (NMDAR의 막 발현에 필요한 GluN1 포함하는) 형성하는 선택된 단백질 서브유닛의 합성 및 발현을 유도한다는 것을 개시한다. 또한, 덱스트로메타돈은 이제 (본 발명자에 의해) GluN2C 및 2D

mRNA의 전사 및 관련 단백질, 서브유닛 2C 및 2D의 합성에도 영향을 미치는 것으로 나타났다.

[0106] 예시 2에서 설명되는 본 발명자의 작업은 이제 덱스트로메타돈이 NMDAR 서브유닛의 합성을 차등적으로 조절함을 또한 입증한다 (예를 들어, GluN2A 서브유닛의 합성은 조절하지만 GluN2B 서브유닛은 조절하지 않는다). 예시 2에서 테스트된 세포 라인(ARPE-19)에서 나타나는 이러한 선택성은 덱스트로메타돈의 조절 효과를 (따라서, 덱스트로메타돈에 의해 조절되는 Ca^{2+} 유입의 차등 패턴의 조절 효과를) 시사할 뿐만 아니라, NMDAR을 형성하는 단백질 합성에 대한 서브유닛-선택적 효과를 시사한다. 본 발명자의 이러한 발견은 MDD와의 (또한, 유사한 병태생리학적 근거의 다른 장애) 관계를 포함하여 생리학적 및 병리학적 기억 형성의 기반에서 새로운 측면을 드러낸다.

[0107] 그와 관련하여, NMDAR은 척추동물의 기억 형성에 핵심적이고 필수적인 것으로 인식되어 왔고, 5억년 이상 동안 모든 척추동물 종에 걸쳐 4가지 다른 아형(GluN2A-D)이 존재해 왔다. 이는 아형에서 NMDAR 차별화에 의해 제공되는 확장 코딩 능력의 진화적 중요성을 강조한다 (후생유전적 코드를 형성하는 차등적 Ca^{2+} 유입 패턴의 미세조정). 덱스트로메타돈의 NMDAR 차단 효과 및 결과적인 Ca^{2+} 유입의 하향 조절로 인한 ARPE-19 세포에서의 단백질 전사 및 합성의 조절은 (1) NMDAR 단백질을 포함하고, (2) NMDAR 아형, 예를 들어 GluN1 및 GluN2A 서브유닛 대 Glun2B 서브유닛에 대해 선택적이므로, 이 세포 라인에서 NMDAR 아형 조립 및 발현에 대해 선택적이다 (예시 2에서 설명되는 바와 같이). 이러한 메카니즘은 새로운 NMDAR 선택 서브유닛의 합성을 (따라서, 새로운 NMDAR 선택 아형의 조립 및 발현) 유도하게 되고, 덱스트로메타돈에 대한 시냅스 조절/강화 효과에 (예를 들면, 시냅스 후 NMDAR의 조절) 대한 잠재성을 시사한다.

[0108] 이러한 새로 인식된 메카니즘은 (본 발명자에 의해 개시되는) 발명자 [De Martin S, Vitolo O, Bernstein G, Alimonti A, Traversa S, Inturrisi CE, Manfredi PL, NMDAR 길항제 덱스트로메타돈은 14일 동안의 환자 내 1상 연구를 받는 건강한 지원자의 혈장 BDNF 수준을 증가시킨다 (The NMDAR Antagonist Dextromethadone Increases Plasma BDNF Levels in Healthy Volunteers Undergoing a 14-Day In-Patient Phase 1 Study), ACNP 57th Annual Meeting: Poster Session II. ACNP 57th Annual Meeting: Poster Session II. Neuropsychopharmacol. 43, 228-382 (2018)]에 의해 설명된 인간 피시험자에서 BDNF의 생산에 대한 효과와 (BDNF는 시냅스 전 강화 및 신경돌기 성장 효과를 역행할 수 있다) 분리되고 그에 추가된다. 그 연구는 건강한 지원자에서 덱스트로메타돈으로부터 BDNF 혈장 수준의 향상을 나타냈을 수 있지만, 피시험자들은 MDD 진단을 받지 않았으므로, 덱스트로메타돈을 사용한 MDD 치료에 대한 지시나 제안이 없었다. 사실상, MDD 환자에서 BDNF의 향상은 덱스트로메타돈과 일관되게 존재하는 것으로 나타나지 않으므로, De Martin과 같은 연구의 지시는 MDD에 결코 적용되지 않는다 (배경기술에서 상기에 설명된 바와 같이, 덱스트로메타돈을 사용한 치료는 고립 증상의 치료로 제한되었고, 그 치료는 MDD와 같은 신경정신 장애로 해석될 수 있다고 보지 않는다). 그러나, 예시 2의 설명은 (선택된 NMDAR 서브유닛의 합성 유도에 의해 밝혀진, 덱스트로메타돈에 의한 시냅스 후 NMDAR 조절) BDNF로부터의 덱스트로메타돈-유도 신경 가소성에 대한 보완 메카니즘을 제공하고 BDNF의 신경 전사, 생성 및 방출 메카니즘에 대해 새로운 수준의 이해를 추가한다.

[0109] 예시 3에서, 본 발명자는 또한 MDD 환자에서 덱스트로메타돈의 2a상 시험의 예상치 못한 결과를 개시한다. 본 발명자의 연구에 의해 개시된 (또한 실시예 전반에 걸쳐 설명된) 시냅스 강화를 위한 분자 메카니즘은 MDD 환자에서 덱스트로메타돈의 예상치 못한 질병-조절 효과를 잠재적으로 설명하고, MDD 및 TRD를 포함하는 관련 장애, 뿐만 아니라 다수의 신경정신 장애 및 다른 장애에 대한 질병-조절 치료제로서의 덱스트로메타돈의 사용에 관한 본 출원에서 새로운 개시를 지지한다.

[0110] 덱스트로메타돈에 대해 이전에 알려지지 않은 분자 효과 및 작용 메카니즘에 대한 여기서의 개시는 추가적으로 다수의 신경정신병, 대사 및 심혈관 질환 및 장애에 대해 잠재적 효능을 시사한다. 본 발명자는 이제 (환자의 특정한 서브세트에서) 질병 및 장애가 병리학적으로 과활성된 NMDAR을 통한 과도한 Ca^{2+} 유입에 의해 유발되거나 유지된다는 것을 개시할 수 있다. 여기서 설명된 본 발명자의 작업에 앞서, 종래 기술에 숙련된 자는 덱스트로메타돈의 주요 작용 모드가 NMDAR의 막내 도메인의 PCP 부위에서 과활성 NMDAR 채널의 차단이고, 덱스트로메타돈에 의한 수용체 점유가 고립된 심리적 증상의 (예를 들면, 통증, 중독, 우울증, 및 불안의 고립된 증상) 증상적 치료에 대해서만 치료적이었다고 믿었다. 그러나, 예시 1-11에 설명된 본 발명자의 작업 및 발견은 덱스트로메타돈이 MDD 및 관련 장애, 수면 장애, 불안 장애, 및 인지 장애를 포함한 다양한 질병 및 장애에 대한 치료제가 (질병-조절제로서) 될 수 있고, 수용체 점유를 훨씬 능가하므로 (지속적인 신경 가소성 효과 때문에), 이전에 생각했던 것처럼 단순한 증상 치료제가 아님을 시사한다.

[0111] 이제 개시되는 바와 같이, 덱스트로메타돈은 새롭고 기능적인 NMDAR의 생성과 막 발현을 조절함으로서 질병-조

절 치료 효과를 발휘하고, 그에 의해 특정한 세포의 기능을 (예를 들어, 시냅스 강도 생성, 및 그에 따른 기억 생성) 잠재적으로 재평형화하고 회로 및 조직 내에서 역할을 (예를 들어, 연결성) 재구성하게 된다. GluN1 서브유닛은 수용체 발현에 필수적이다. 그러므로, 덱스트로메타돈은 병리학적으로 과활성된 NMDAR을 조절할 수 있을 뿐만 아니라, 새로운 기능적 NMDAR의 합성 및 발현을 유도할 수 있으므로, 특정한 회로의 일부인 특정한 신경 세포의 적절한 기능을 허용할 수 있다 (즉, 감정적 기억 형성 및 조절을 포함한 시냅스 전후의 시냅스 강화 및 기억 형성). 덱스트로메타돈, 및 잠재적으로 다른 NMDAR 차단제는 NMDAR의 기공 채널을 (증상 효과를 잠재적으로 설명하는 작용) 차단함으로서 Ca^{2+} 진입 패턴을 변화시킬 뿐만 아니라, 세포막에서 NMDAR 발현을 변화시킨다 (본 발명자에 의해 개신된 새로운 작용 메카니즘은 특히, 이후 예시 3에서 예시된 임상 연구 결과에 의해 입증된 예상치 못한 강력하고, 신속하고, 지속적인 질병-조절 효과를 설명한다).

[0112] 상기에 설명된 바와 같이, 본 발명자는 (예시 2에서) 덱스트로메타돈이 GluN1에 대한 mRNA를 유도할 뿐만 아니라, GluN1 단백질 서브유닛 및 다른 GluN2A 단백질 서브유닛의 생산을 조절함을 나타낸다. 본 발명자는 또한 이러한 효과가 1주일 동안 낮은 농도의 덱스트로메타돈에 노출된 세포에서 더 분명하다는 것을 발견했다 (환자가 1주일 동안 비교적 낮은 약물 용량으로 치료된 예시 3의 임상 프로토콜에 따라). 임의의 이론에 제한되지 않지만, 본 발명자는 과도한 자극에 (고농도 글루타메이트, 또는 예를 들어, 과도한 빛에) 노출된 ARPE-19 세포의 막에서 발현된 NMDAR이 병리학적으로 (즉, 과도하게) 개방되고, 과도한 Ca^{2+} 유입이 시냅스 단백질 생성을 위한 유전자의 셧다운을 포함하고, NMDAR 서브유닛의 생성을 포함하고, 또한 NMDAR1 및 NMDAR2A-D의 차등 조절을 포함하여, 세포 활동의 셧다운(shutdown)을 (도 16 및 예시 2를 참조) 유발한다고 믿는다.

[0113] 과도한 자극 및/또는 Ca^{2+} 유입에 의해 손상된 세포가 덱스트로메타돈에 노출될 때, 과도한 Ca^{2+} 진입은 하향 조절되고 시냅스 단백질의 생성이 재개된다. ARPE-19 세포의 경우, NMDAR1 서브유닛 (NMDAR의 막 발현에 필요한) 및 예를 들어, GluN2A 서브유닛이 (GluN2B 서브유닛이 아니고) 유도된다. 이 선택성은 우연이 아닐 가능성이 있지만, 주어진 양의 자극에, 예를 들어 빛에 노출되었을 때 ARPE-19 세포 라인의 기능/특화에 잠재적으로 관련이 있다. NMDAR 서브유닛의 이러한 선택적 조절은 NMDAR의 막 발현의 다른 프레임워크를 갖고 다른 기능을 갖는 다른 세포 라인에, 또한 다른 회로나 다른 조직의 일부에 자극이 적용될 때, 또는 동일한 세포에서도 차등적인 자극이 적용될 때 (다른 글루타메이트 농도나 다른 강도 또는 빛 노출 특징: 다른 실험 설정) 달라지게 된다.

[0114] 상기에 부가하여, 본 발명자는 또한 (예시 5에서) 여기서 본 발명자에 의해 NMDAR의 양성 알로스테릭 조절제 (PAM)인 것으로 밝혀진, 겐타마이신에 노출된 세포에서 덱스트로메타돈에 의한 Ca^{2+} 유입의 하향조절을 입증한다. 겐타마이신은 소리를 전기화학적 신호로 변환하는 세포인 이모세포에 유독하다. 이를 위해, 예시 5는 과도한 Ca^{2+} 유입으로 인한 흥분독성이 과도한 시냅스 전 글루타메이트 방출에 의해 유발될 때 (예를 들어, 장기간의 심리적 스트레스 동안) 뿐만 아니라, 매우 낮은 글루타메이트 농도에서 (생리학적 농도에서도) 과도한 Ca^{2+} 유입이 독성 PAM에 의해 유발될 때, 덱스트로메타돈의 잠재적인 질병-조절 효과를 설명한다.

[0115] 독성 PAM은 다양한 화학 물질 중 하나가 될 수 있고 두가지 주요 메카니즘을 통해 작용할 수 있다: (1) 글루타메이트(aPAM)에 대한 최대 반응을 증가시키는 것, 및/또는 (2) 글루타메이트의 ED50을 좌측으로(bPAM) 쉬프트하는 것. 예시 5에서, 겐타마이신은 GluN2B에서 메카니즘 (1)을 통해 aPAM으로 작용하고, GluN2A, GluN2C, 및 GluN2D에서 메카니즘 (2)를 통해 bPAM으로 작용하는 것으로 나타난다. NMDAR 아형을 포함하는 GluNC 및 GluND 서브유닛에 대한 bPAM 메카니즘은 덱스트로메타돈의 개시된 작용 메카니즘 때문에 본 개시내용과 관련이 있다. 예시 1에 의해 (GluN1-GluN2C에 대한 선호도 및 GluN2D 아형에서의 활성), 또한 예시 2, 5, 및 6에 의해 제안된 바와 같이, 덱스트로메타돈은 강장적 Ca^{2+} 투과성 GluN1-GluN2C 및 GluN1-GluN2D 아형을 통해 (또한 GluN3 서브유닛을 포함하는 아형을 통해) Ca^{2+} 유입을 우선적으로 (선택적으로) 차단할 수 있다.

[0116] 따라서, 덱스트로메타돈은, NMDAR에 대한 선택성 및 강장적 병리학적으로 과활성된 GluN1-GluN2C의 (또한 GluN1-GluN2D 아형 및 가능하게 GluN3 서브유닛을 포함하는 아형) 작용 메카니즘으로 인해 (과도한 내부 Ca^{2+} 전류의 차단), 원인에 관계없이 (항체를 포함한 외인성 및 내인성 화학물질을 포함하여 작용제 부위에서 또는 PAM으로 작용하는 과량의 글루타메이트 또는 다수의 분자 중 임의의 하나), 병리학적 또한 강장적으로 과도한 Ca^{2+} 투과성 NMDAR에 의해 유발되거나 유지되는 다양한 질병에 대한 잠재적으로 예방적, 치료적, 또한/또는 진단적인 것으로 본 발명자에 의해 결정된다. MDD의 경우, NMDAR 작용제는 (퀴놀린산과 같은) 또한 다른 메카니즘에 의해 세포외 글루타메이트를 증가시킬 수 있으므로 [Guillemin GJ, 퀴놀린산: 신경독성(Quinolinic acid:

neurotoxicity), FEBS J. 2012;279(8):1355], NMDAR을 추가로 과활성화시킬 수 있다. 덱스트로메타돈은 또한 예시 5에서 볼 수 있는 바와 같이, 퀴놀린산의 부가적인 신경독성 효과를 중화시킨다. 따라서, 예시 1 및 2의 결과, 예시 5의 NMDAR PAM 겐타마이신 및 작용제 퀴놀린산에 대한 결과, 예시 3에서 상세히 설명되는 신속하고, 강력하고, 지속적인 효능을 나타내는 MDD 환자에서의 2상 결과, 및 예시 6-11에서 상세히 설명되는 결과 및 개시는 NMDAR의 과활성화를 특징으로 하는 MDD 및 다른 질병을 갖는 환자에 대한 덱스트로메타돈의 질병-조절 효과를 강하게 시사한다. 그러므로, MDD 관련 장애, 예를 들어 PPD (Maes M 등. 산욕기 초기의 우울 및 불안 증상은 트립토판의 키누레닌으로의 분해 증가와 관련이 있고, 이는 면역 활성화와 관련된 현상이다 (Depressive and anxiety symptoms in the early puerperium are related to increased degradation of tryptophan into kynurenine, a phenomenon which is related to immune activation). Life Sci. 2002; 71:1837-1848) 및 염증 상태도 [Capuron L 등. 인터페론 알파에 의한 트립토판 대사 변화: 우울증과 파록세틴 치료와의 관계 (Interferon-alpha-induced changes in tryptophan metabolism: relationship to depression and paroxetine treatment), Biol. Psychiatry. 2003, 54:906-914; Raison CL 등. IFN-알파로 면역 자극하는 동안 뇌 트립토판 및 키누레닌의 CSF 농도: CNS 면역 반응 및 우울증과의 관계 (CSF concentrations of brain tryptophan and kynurenines during immune stimulation with IFN-alpha: relationship to CNS immune responses and depression), Mol. Psychiatry. 2010, 15:393-403; Du J, Li XH, Li YJ. 말초 기관에서의 글루타메이트 (Glutamate in peripheral organs): Biology and pharmacology, Eur J Pharmacol. 2016;784:42-48] 또한 덱스트로메타돈으로 치료될 수 있다.

[0117] 라임병 환자로 예시화되는 바와 같이, 혈청 및/또는 CSF에서의 퀴놀린산 수치 증가와 연관된, 뇌병증을 포함한 CNS 장애가 있는 환자는 [Halperin JJ, Heyes MP. 라임 보렐리아증의 신경 활성 키누레닌 (Neuroactive kynurenines in Lyme borreliosis), Neurology. 1992;42(1):43-50] 덱스트로메타돈으로 개선될 가능성이 있다. 부가적으로, 시상하부-뇌하수체-부신 축에서의 변경을 유발하는 (본 발명자의 1상 MAD 연구에서 덱스트로메타돈의 혈압 감소 효과에 의해 시사되는), 감염에 대한 면역학적 반응 및 우울증은 모두 덱스트로메타돈 및 예를 들어, 퀴놀린산에 의한 과자극된 NMDAR을 통한 과도한 Ca^{2+} 유입의 하향 조절에 의해 긍정적인 영향을 받을 수 있다 [Ramirez LA, Perez-Padilla EA, Garcia-Oscos F, Salgado H, Atzori M, Pineda JC. 세로토닌/키누레닌 관계 및 시상하부-뇌하수체-부신 축을 기반으로 한 우울증의 새로운 이론 (A new theory of depression based on the serotonin/kynurenine relationship and the hypothalamic-pituitary- adrenal axis), Biomedica. 2018;38(3):437-450. Published 2018 Sep 1]. 시상하부-뇌하수체-부신 축의 조절은 또한 본 발명자의 1상 MAD 연구에서 덱스트로메타돈의 BP 효과 저하에 의해 시사된다.

[0118] 정상적인 (생리학적) 뇌 활동 동안, 시냅스 전 뉴런의 자극 및 탈분극은 AMPAR의 개방과 함께 (Na^{+} 유입, 시냅스 후 탈분극, 및 NMDAR 전압 의존적 Mg^{2+} 차단의 방출과 함께), 또한 Ca^{2+} 유입 및 NMDAR의 개방과 함께, 시냅스 틈에서의 축색돌기에 의한 글루타메이트의 방출을 초래하게 된다. 생리학적 양의 Ca^{2+} 유입은 시냅스 후 수준에서 CaMKII 활성화를 통해 신경 가소성을 촉진한다 [시냅스 강화 및 신경염에 대한 영양 (척추 생성 및 성장) 및 열대 (성장 방향) 효과와 함께 세포 외 공간에서 BDNF의 합성 및 방출을 통해, 시냅스 후 세포에서 또한 시냅스 후 및 시냅스 전 수준으로 시냅스의 강화 및 시냅스 단백질의 합성 유도]. 시냅스 전 세포에서 NMDAR의 직접적인 활성화는 또한 예를 들어, 글루타메이트 저장을 조절함으로서 시냅스 전 수준에서 신경 가소성에 기여할 수 있다 (Berretta N, Jones RS. 내후각 피질에서 시냅스 전 N-메틸-D-아스파테이트 자가수용체에 의한 글루타메이트 방출의 강장제 촉진 (Tonic facilitation of glutamate release by presynaptic N-methyl-D-aspartate autoreceptors in the entorhinal cortex). Neuroscience 1996; 75:339-344).

[0119] 예시 1-11에 도시된 본 발명자의 실험 결과는 NMDAR을 통한 Ca^{2+} 유입이 과도할 때, 세포가 시냅스 단백질 및 신경영양 인자의 생산을 중단한다고 (잠재적으로 세포자멸사로 진행될 수 있는 흥분독성에서의 첫 번째 단계) 제안한다. 덱스트로메타돈은 과도한 Ca^{2+} 유입을 하향 조절함으로서 신경 가소성 기계를 (BDNF를 포함하여, 시냅스 단백질 및 신경영양 인자의 생성) 복원한다. 이는 잠재적으로 세포 기능장애 및 세포 사멸의 진행을 방지하므로, MDD에 대한 [뿐만 아니라 MDD 관련 장애 및 잠재적으로 선택된 세포 집단, 조직, CNS와 추가 CNS에서의 회로 중 선택된 세포 부분에서 NMDAR을 통한 과도한 Ca^{2+} 유입에 의해 유발, 유지, 또는 악화되는 다양한 질병에 대한 (Du 등, 2016)] 질병-조절 치료를 수행하게 된다.

[0120] LTP 기계에 대한 Ca^{2+}의 다운스트림 효과는 역 U자 곡선을 따른다: Ca^{2+} 유입은 특정한 양의 Ca^{2+} 유입까지는 LTP

를 선호하다가, Ca^{2+} 유입이 과도해지면, 세포가 기능장애가 (흥분독성) 되어 LTP가 억제된다. 이 과도한 Ca^{2+} 유입이 진행되면, 세포는 영구적으로 손상될 수 있다. 과-자극된 NMDAR을 갖는 뉴런이 (여기서 LTP는 흥분독성 때문에 중단된다) 다수의 기능 회로 또는 조직 중 하나의 (또는 그 이상의) 일부인 경우, 손상된 회로 또는 조직에 대해 특정한 장애 및 질병이 발생할 수 있다.

[0121] 따라서, 예시에서 제시된 덱스트로메타돈의 분자 효과는 MDD와 관련하여 예시 3에 나타난 결과에 대한 잠재적인 메카니즘을 제공한다: 즉, 예상치 못하게 강하게 긍정적이고 (큰 효과 크기를 갖는 통계적으로 매우 유의미한 p 값), 신속하고 (효능의 첫 번째 신호는 25mg 용량에 대해 2일째에 예상치 않게 시작되었고 4일째에 25mg 및 50mg의 두 용량 모두에서 통계적으로 의미가 있었다), 지속되는/오래 지속되는/끊임없는 (통계적으로 유의미한 임상적으로 의미있는 치료 효과 및 큰 효과 크기가 1주 치료 과정의 갑작스러운 중단 이후 적어도 1주일 동안 지속되었다) 효능 효과가 예시 3에서 상세히 설명되는 2a상 연구에서 나타났다. 이러한 신경 가소성 효과는 - NMDAR-매개 LTP를 포함하는 - 또한 50mg 용량을 수용한 환자와 비교하여 (대응하는 더 높은 덱스트로메타돈 혈장 농도, 약 600nM을 갖는), 25mg 용량으로 무작위 배정된 환자에서 나타나는 (대응하는 더 낮은 덱스트로메타돈 혈장 농도, 약 300nM을 갖는) 더 나은 효능에 대한 예상치 못한 신호를 설명할 수 있다 (예시 3에서 보여지는). 덱스트로메타돈의 치료 효과는 케타민과 같은, 다른 NMDAR 개방 채널 차단제에 대해 설명된 것과 유사하게, 역 U자 곡선을 잠재적으로 따른다. 마지막으로, 덱스트로메타돈에 대한 안전 창은 넓을 수 있지만 (예시 3), 적어도 MDD에 대한 치료 창은 5 내지 100mg 및/또는 12.5 내지 75mg 사이의 일일 용량과, 50 내지 900ng/ml 사이 또한/또는 5 내지 90의 자유 수준의 혈장 농도에 맞춰질 수 있다 (예시 3을 참조). 이 측면은 2a상 연구 결과의 하위 분석에서 BMI가 고려될 때 이후 상세히 설명된다.

[0122] 이러한 강력한 효능 결과로부터 (약물 중단 이후 지속적인 효능을 포함하는), 덱스트로메타돈이 단순히 고립된 증상을 개선하지 않는다는 것이 이제 처음으로 밝혀졌다. 오히려, 덱스트로메타돈은 MDD, MDD 관련 장애 환자에게, 또한 잠재적으로 다른 신경정신병과 대사 장애, 및 NMDAR 과활성화와 잠재적으로 연관된 다른 장애 (고혈압과 같은 시상하부-뇌하수체 축의 장애, 잠재적으로 심혈관 및 대사 장애, 또한 여기서 참고로 포함되는 Du 등, 2016에서 설명된 다른 장애를 포함하는) 및 선택된 세포에서의 과도한 Ca^{2+} 유입을 겪고 있는 환자에게 질병/장애-조절 효과를 발휘하는 강력한 신호를 나타낸다.

[0123] 이러한 예상치 못하게 강력하게 긍정적이고 지속적인 효과는 정신분열 부작용을 일으키지 않는 약물을 사용한 MDD에 대한 시험에서 전례가 없는 것이다. 또한, 이후 설명될 바와 같이, 덱스트로메타돈의 극도의 내약성 및 안전성은 (매우 효과적인 25mg 경구 1일 용량으로 위약과 유사한 유해 사례 프로파일을 갖는) 병리학적 과활성 채널에 대한 (과활성화된 NMDAR) 덱스트로메타돈의 활성이 매우 선택적임을 (생리학적으로 작동하는 채널을 선택적으로 아끼면서) 시사한다. 그러므로, 덱스트로메타돈의 효능은 과활성화된 NMDAR로 인한 (예를 들면, 글루타메이트 또는 다른 작용제나 PAM에 의한 NMDAR 과다자극) 세포/회로 기능장애에 의해 유발되거나 유지되는 다양한 질병 및 장애로 잠재적으로 확장될 수 있다.

[0124] 그래서, 덱스트로메타돈이 통증 및 우울증과 같은 고립된 증상의 치료에 사용되었지만 (본 발명자가 미국 특허 일련번호 6,008,258 및 미국 특허 일련번호 9,468,611에서 개시한), 본 발명자는 이제 처음으로 이것이 질병-조절 효과를 나타낼 수 있으므로, 생리적 신경 가소성의 중단 및/또는 선택된 세포, 선택된 하위 집단의 일부, 조직 및/또는 회로에서의 과도한 Ca^{2+} 유입으로 인한 다른 생리적 세포 기능의 중단에 의해 유발, 유지, 또는 악화되는 다양한 질병 및 장애에 대한 질병-조절 치료제로도 유용하다는 것을 결정하였다 (이는 이전에 인식되지 않았다).

[0125] 과활성화된 NMDAR이 특정한 구조 및 기능 회로의 일부 선택 세포 막의 선택 부위에서 발현될 때, NMDAR은 과도한 Ca^{2+} 유입을 허용하여, 선택 세포와 세포 라인, 집단, 조직, 및 회로에서 세포 기능장애를 (또한 흥분독성이라 칭하여지는) 유발하게 된다. 신경계(NS)에서, CNS 세포의 (뉴런, 성상교세포, 희돌기아교세포, 및 미세아교세포를 포함한 다른 아교세포를 포함하는) 기능장애는 시간공간적 요인 (NS 내의 발달 연령 및 위치) 및 NS 세포 아형에 따라 선택된 회로에서 뇌 연결성을 변경시킨다. 환자는 이러한 회로 장애를 증후군, 장애 또는 질병, 예를 들어 다양한 신경정신 장애 중 하나로 나타낼 수 있다.

[0126] 이러한 증후군, 장애 또는 질병은 MDD (DMS5 및 ICD11에 열거된) 또는 다음 중 하나 이상을 포함할 수 있다: 알츠하이머병; 조로성 치매; 노인성 치매; 혈관성 치매; 루이소체 치매; 인지 장애 [노화 및 만성 질환 및 그 치료와 관련된 경도 인지 장애(MCI)를 포함하는], 파킨슨병, 및 파킨슨병 치매를 포함하지만 그에 제한되지 않는 파킨슨병 관련 장애; 베타 아밀로이드 단백질의 축적과 관련된 장애 (전두측두엽 치매 및 그 변이체, 전두엽 변

이, 초기 진행성 실어증 (의미성 치매 및 진행성 비유창성 실어증), 피질기저변성, 핵상마비를 포함하지만 그에 제한되지 않는 타우 단백질 및 대사산물의 뇌혈관 또는 파괴를 포함하지만 그에 제한되지 않는); 간질; NS 외상; NS 감염; NS 염증 [자가면역 장애로 (NMDAR 뇌염과 같은) 인한 염증, 및 독소로 (미생물 독소, 중금속, 살충제 등을 포함하는) 인한 세포병리학을 포함하는]; 뇌졸중; 다발성 경화증; 헌팅턴 병; 미토콘드리아 장애; 취약 X 증후군; 엔젤만 증후군; 유전성 운동실조; 신경-이과 및 안구 운동 장애; 녹내장, 당뇨병성 망막병증, 및 연령-관련 황반변성과 같은 망막의 신경변성 질환; 근위축성 측삭 경화증; 지연성 운동이상증; 과다운동 장애; 주의력 결핍 과잉 행동 장애("ADHD") 및 주의력 결핍 장애; 하지불안 증후군; 투렛 증후군; 정신분열증; 자폐 스펙트럼 장애; 결절성 경화증; 레트 증후군; 프라더 윌리 증후군; 뇌성 마비; 섭식 장애 [신경성 식욕부진증("AN"), 신경성 폭식증("BN"), 및 폭식 장애("BED")를 포함하는], 트리코틸로매니아를 포함하지만 그에 제한되지 않는 보상 시스템 장애; 피부병; 손톱 물어뜯기; 물질 및 알코올 남용 및 의존; 편두통; 섬유근육통; 및 임의의 병인의 말초 신경병증.

[0127] 본 발명자는 예시 3에 설명된 MDD 환자와 같이, DMS5 및 ICD11에 열거된 신경정신 장애로 진단된 환자의 서브세트를 과활성화된 NMDAR에 의해 유발 및/또는 유지되는 장애로 고통받는 것으로 간주한다. 예시 1-7에 개시된 분자 작용 및 예시 3에 제시된 임상 효과를 (유효성 및 안전성) 갖는 덱스트로메타돈과 같은 약물은 NMDAR 뇌염 및 NMDAR에 영향을 미치는 다른 면역학적 장애, 또한 Du 등, 2016에 의해 설명된 질병 및 장애를 포함하여, DMS5 및 ICD1에 열거된 신경정신 장애로 진단된 선택 환자에게 잠재적으로 안전하고 효과적이다 (Du 등에서 설명된 질병 및 장애는 여기서 참조로 포함된다).

[0128] 따라서, 덱스트로메타돈은 예방 및/또는 치료 약물로 사용될 수 있을 뿐만 아니라, 과활성 NMDAR에 의해 유발 및/또는 유지되는 장애로 고통받을 수 있는 DMS5 및 ICD11에 열거된 신경정신 장애로 진단된 환자를 선택하기 위한 안전하고 효과적인 진단 도구로 사용될 수 있다. 그에 따라, 본 발명자는 또한 예방 또는 치료 약물로서뿐만 아니라, 신경계, 신경정신과, 안과 (시각 장애를 포함하는), 이과 (청각 장애, 균형 장애, 현기증, 이명을 포함하는), 대사 (내당능 장애 및 당뇨병, NAFLD와 NASH를 포함한 간 장애, 골다공증을 포함하는), 면역학, 종양학 및 심혈관 (CAD, CHF, HTN을 포함하는), 또한 상기에 열거된 것과 Du 등, 2016에 의해 설명된 것과 같은 다른 질병 및 장애를 포함하는 다양한 질병 및 장애에서 NMDAR 기능장애의 진단을 위한 진단 도구로서 덱스트로메타돈을 개시한다. 여기서 개시된 임의의 경로에 의한 덱스트로메타돈 투여는 척추동물, 포유동물, 및 인간에서 과활성 NMDAR에 의해 유발되거나 유지되는 질병 및 장애의 진단에 도움이 될 것이다.

[0129] 여기서 개시된 새로운 실험 데이터를 기반으로, 본 발명자는 또한 덱스트로메타돈이 특정한 병리학적 과활성 NMDAR을 (예를 들면, 강장적으로 과활성된 NMDAR의 서브세트, 예를 들어 아형 NR1-GluN2C 및/또는 NR1-GluN2D, 또한/또는 3A 및/또는 3B 서브유닛을 포함하는 아형) 선택적으로 표적화할 수 있고, 기능적으로 또한 구조적으로 세포를 손상시키는 과활성 NMDAR 채널에서만 과도한 Ca^{2+} 유입을 하향-조절할 수 있음을 개시한다. 예시 1의 FLIPR 실험에 의해 나타난 바와 같이, NMDAR에서 덱스트로메타돈의 작용은 시냅스전 자극의 강도에 따라 차등적이고 (덱스트로메타돈의 차단 작용은 글루타메이트 자극이 증가함에 따라 증가한다) NMDAR 아형을 기반으로 차등적이다. 이 실험은 Mg^{2+}를 포함하지 않으므로, 시냅스 전 글루타메이트 방출에 의해 유도된 AMPAR 탈분극이 이미 NMDAR에서 시냅스 틈으로 Mg^{2+}를 방출한 설정과 유사하다. 생체 내 Mg^{2+}의 존재는 덱스트로메타돈을 덜 관련성 있게 만들 가능성이 있다 (즉, 이미 차단되고 비활성이기 때문에, 예를 들어 아형 GluN2A 및 B가 Mg^{2+}에 의해 차단되는 동안 Ca^{2+}에 불투과성이기 때문에, 덱스트로메타돈은 비활성화된 Mg^{2+} 차단 채널에 차단 효과를 갖지 않을 수 있다). 그러나, 덱스트로메타돈에 의한 수용체 아형 A-D에서의 이러한 차등 작용은 강장성 및 병리학적 과활성 채널, 예를 들어 NR1-NR2C에 (또한 NR1-NR2D 아형 또는 아형을 포함하는 3A-B 서브유닛) 대한 선택적 작용을 설명하는데 중요하다. 덱스트로메타돈에 의해 제공되는 개방 기공 채널을 통한 Ca^{2+} 유입의 하향 조절은 NR1, NR2A-D, 및 NR3A-B 서브유닛을 포함하는 시냅스 단백질의 생산 유도 (예시 2), 및 인간의 신경영양 요인과 다른 시냅스 단백질의 생산을 포함하는 신경 가소성 활성을 조절한다. 신경영양 요인은 시냅스 후 및 시냅스 전 신경 가소성 모두에 작용하는 것으로 알려져 있다.

[0130] 본 발명자는 여기서 비경쟁적 개방 채널 차단제 덱스트로메타돈이 Ca^{+} 유입을 조절하기 위해 병리학적 과활성 채널에서 직접적이고 선택적으로 작용하여 선택 세포에서 시냅스 전후로 생리학적 신경 가소성을 재활성화함을 개시한다. 병리학적 과활성 채널의 차단은 GLUN1 및 2A 서브유닛을 포함한 시냅스 단백질과 같은 신경 가소성에 대한 핵심 인자의 합성을 위한 유전자 활성화 (예시 2), 및 BDNF를 포함한 신경영양 요인을 포함하여, 긍정적인

다운스트림 결과로 과도한 Ca^{2+} 유입을 조절한다. 뉴런의 합성 신경 가소성 활동의 이러한 활성화는 세포가 신경 가소성 펩타이드의 생산을 멈추게 하여 생리학적 신경 가소성의 재개를 초래하게 되는 비정상, 과도한 Ca^{2+} 진입의 교정을 시사한다.

[0131] 본 발명자의 개시된 작용 메카니즘을 지지하여, 세포 기능의 이러한 재활성화 (과도한 Ca^{+} 유입에 의해 손상된 세포에 대해 선택적인), 및 그에 따른 손상된 CNS 회로의 재활성화는 MDD 환자에서 (치료 중단 이후) 신속하고 강력하고 지속적인 효과에 대한 본 발명자의 예상치 못한 발견에 의해 임상적으로 나타난다. 이러한 발견은 (예시 3을 참조) NMDAR 과활성화가 (또한 선택된 뉴런에서의 과도한 Ca^{2+} 유입) 본 발명자의 시험에 등록된 MDD에 대한 병 원인 (유발 및/또는 유지 인자) 이었다는 것을 지지할 뿐만 아니라 (MDD 및 관련 장애에 대한 새로운 병인 메카니즘), 덱스트로메타돈이 또한 MDD에 대해, 예를 들어, 병리학적 과활성 NMDAR 및 과도한 Ca^{2+} 유입, 또한 신경 가소성 억제나 다른 세포 기능 손상에 의해 유발 및/또는 유지되는 시상하부-뇌하수체 축 장애를 포함하여, MDD와 관련된 장애 및 다른 신경-정신 장애에 대해 잠재적인 치유력이 있음을 시사한다 (예를 들어, Du 등, 2016에 설명된 질병 및 장애에 대해, 겐타마이신이 PAM으로 작용하는 예시 5를 참조).

[0132] CNS 장애의 경우, 흥분독성이 시작되기 전에, 선택된 뉴런에서의 과도한 Ca^{2+} 유입은 과도한 억제 활성, 예를 들어 내측 전전두엽 피질(mPFC) 뉴런으로 돌출하는 억제 개재뉴런을 유발할 수도 있다. 덱스트로메타돈은 병리학적 과활성 NMDAR 채널을 차단함으로서, 예를 들어 강장성 과활성 NMDAR을 선택하여, 개재뉴런에 의한 과도한 억제 활성을 감소 또는 중단시켜 mPFC 뉴런의 과도한 억제를 완화할 수 있다. 반대 작용에 의한 억제 활성의 제어 1) GABAaR 분산, 또는 2) GABAaR 클러스터링은 자극 유도 NMDAR 활성의 결과이다 [Bannai H, Niwa F, Sherwood MW, Shrivastava AN, Arizono M, Miyamoto A, Sugiura K, Levi S, Triller A, Mikoshiba K. 글루타메이트와 칼슘에 의한 시냅스 GABAAR 클러스터링의 양방향 제어 (Bidirectional control of synaptic GABAAR clustering by glutamate and calcium). Cell reports. 2015 Dec 29;13(12):2768-80]. 따라서, 뇌 네트워크의 항상성 리듬에 존재하는 억제 활성은 NMDAR 결정 Ca^{2+} 유입에 의해 제어된다. 과도할 때, 이러한 Ca^{2+} 내부 전류는 텍스트로메타돈에 의해 잠재적으로 조절될 수 있다. 그래서, 흥분 활성 뿐만 아니라 억제 활성도 NMDAR 및 Ca^{2+} 신호전달에 의해 조절된다. 그러므로, NMDAR 프레임워크는 GABAaR과 같은 억제 수용체를 포함한 다른 모든 수용체의 프레임워크를 Ca^{2+} 신호전달을 통해 조절함으로서 흥분 작용 뿐만 아니라 억제 작용도 제어한다.

[0133] 따라서, NMDAR은 환경 입력을 수신하고, Ca^{2+} 신호전달 및 그 다운스트림 효과를 통해 모든 시냅스 프레임워크를 제어 및 조절함으로서 미세하게 조절된 신경 가소성에서 이 입력을 해석하는 중앙 조절 위치를 가정한다. 이러한 다운스트림 효과는 AMPAR, NMDAR, GABAaR, 및 거의 모든 다른 CNS 수용체에 대한 수용체 서브유닛의 전사를 포함하여, NGF 및 시냅스 단백질 전사, 합성, 수송, 및 조립을 포함한다. 그래서, NMDAR은 환경 자극에 의해 형성되기 때문에, NMDAR을 포함하는 시냅스 프레임워크의 평생 진화를 제어한다.

[0134] 따라서, 질병 및 장애는 다수의 다른 회로 중 하나에 필수적인 선택 뉴런에 의해 발현되는 하나 이상의 NMDAR 아형의 과도한 활성화에 의해 (예를 들어, 생명-스트레스 요인, 다른 자극, 내인성 또는 외인성 작용제 및/또는 독소를 포함한 내인성 또는 외인성 PAM에 의한 것을 포함하여, 글루타메이트 매개 자극에 의해 유발되는 활성화) 유발, 유지 또는 악화될 수 있다. 이러한 과도한 NMDAR 활성화는 NMDAR을 통해 시냅스 후 뉴런으로 과도한 Ca^{2+} 유입을 초래한다. 시냅스 전 글루타메이트 수용체도 또한 신경 가소성에 역할을 하므로 (Baretta 및 Jones, 1996; Bouvier G, Bidoret C, Casado M, Paoletti P. 시냅스전 NMDA 수용체 (Presynaptic NMDA receptors): Roles and rules. Neuroscience. 2015;311:322-340), 덱스트로메타돈에 의해 조절될 수 있다. 선택 뉴런에서 Ca^{2+} 유입이 과도하면, 신경 가소성 활동을 하향 조절하고 그 연결을 줄이거나 중단하여 그 신경 회로의 기능을 변경한다 (감소된 시냅스 기계 및 강도) (과도한 Ca^{2+} 유입은 흥분 독성이 세포 사멸로 진행되는 경우 뉴런의 중요한 구조 및 기능에 영향을 미칠 수 있다). NMDAR 차단제로 독특한 분자 작용을 하는 덱스트로메타돈과 같은 약물은 (예시 1 및 5) 생리학적으로 기능하는 NMDAR에 영향을 미치지 않으면서 병리학적으로 과활성인 NMDAR에서 과도한 Ca^{2+} 세포 유입을 하향 조절한다 (이는 치료 용량에서 인지 부작용이 없음을 보여주는 2a상 시험, 예시 3에서 처음으로 입증되었다). 따라서, 세포는 (이전에 흥분독성에 의해 손상된) 신경 가소성 기능을 재개하고 회로 장애의 해결과 (신경정신과적 증상의 해결 뿐만 아니라 신경정신 장애의 해결) 함께 NS 회로를 복원한다: 이 질병-조절 효과는 치료의 갑작스러운 중단 후 및 덱스트로메타돈의 혈장 농도 감소와 결과적

으로 수용체 점유율 감소와 함께 예시 3에 나타난 지속적인 효능 결과에 의해 나타난 바와 같이, 신경 가소성으로 인한 것이고, Ca^{2+} 유입의 하향 조절로 인한 일시적 효과 및 수용체 점유 때문만은 아니다.

[0135] 본 출원에 제시된 2a상 결과에 의해 환자에게 처음으로 확인된 바와 같이 (예시 3), PAM 및 다른 작용제의 존재를 포함하여 차등 농도의 글루타메이트 자극에 대한 (매우 낮은 수준의 글루타메이트를 포함하는) 개시된 차등 Ca^{2+} 하향조절 작용을 갖고 (예시 5), NMDAR 아형에서의 차별적이고 독특한 작용 (예시 1, 5), 독특한 "on"-"off" NMDAR 동역학 (예시 6, 파트 I) 및 "트래핑(trapping)" 프로파일 (예시 6, 파트 II), 및 휴지막 전위에서 Mg^{2+}의 생리학적 농도에서의 독특한 효과를 갖는 (예시 6, 파트 III), 질병-조절 유효량에서 내약성이 우수한 덱스트로메타돈과 같은 약물은 다양한 질병 및 장애에 대한 잠재적인 질병-조절 치료법이다. 중요하게, NMDAR 채널에서의 덱스트로메타돈의 차단 활성은 예시 1-11에 개시된 결과에 의해 시사되는 바와 같이, 유효 용량에서 생리학적 활성을 방해하지 않는다 (치료 용량에서 부작용이 없는 것으로 입증된 바와 같이, 예시 3). 따라서, 덱스트로메타돈은 생리학적 수술 동안 또한 병리학적 상황 하에서, 모두 뇌 기능을 탐색하는 새로운 도구가 된다. 부가적으로, 연구원 및 의사는 다양한 질병 및 장애 중 하나를 유발하거나 유지 또는 악화시키는 NMDAR 과기능 환자의 서브세트를 선택하는 새로운 진단 도구로 무장될 것이다.

[0136] 덱스트로메타돈에 대한 실험적 발견을 기반으로, 건강한 피시험자 및 MDD 환자에서 시험관내 및 생체내에서, 본 발명자는 이제 공유된 후생유전적 코드가, G+E 패러다임의 기반에서, NMDAR 프레임워크에 의해 결정된 역학으로 Ca^{2+} 세포 유입의 차등 패턴을 결정하여 작용제, PAM, 및 NAM에 의해 (예를 들면, NMDAR의 폴리아민 부위, 또는 다른 NMDAR 조절제나 독소에 의한 다른 알로스테릭 또는 작용제 부위의 활성화) 통합된 자극 (세포에 도달하는 환경 자극) 유도 글루타메이트의 시냅스 전 방출에 의해 결정되는 것을 가정할 수 있다. Ca^{2+} 유입의 이러한 차등 패턴은 건강 및 질병과, 뇌에서 (다른 세포/조직에는 다른 영향이 있게 된다), 시냅스 후 및 시냅스 전 신경 가소성 조절을 결정한다: 예를 들면, 본 출원 전체에서 제시된 실험 연구에서 볼 수 있는 바와 같이, 과도한 Ca^{2+} 유입은 신경 가소성을 하향 조절하고, 과도한 Ca^{2+} 유입의 감소는, 예를 들어 비경쟁 채널 차단제 덱스트로메타돈에 의해, 잠재적으로 생리적 신경 가소성의 재개를 초래하게 된다. 뇌 활동에 대한 공유 코드는 - Ca^{2+} 유입의 차등 패턴 - NMDAR 발현을 (NMDAR 프레임워크) 조절하는 것으로 본 발명자에 의해 보여졌다 (예시 2). 글루타메이트의 시냅스 전 방출 이후 시냅스 후 Ca^{2+} 유입의 패턴은 시냅스 후 AMPAR 및 NMDAR 발현에 의해 (또한, Berretta 및 Jones, 1996에 의해 보여진 바와 같이, 시냅스 전 NMDAR 발현에 의해) 조절되고, 이 시냅스 후 AMPAR 및 NMDAR 수용체 발현은 (또한 시냅스 전 글루타메이트 방출) 차례로 Ca^{2+} 유입에 의해 조절된다. 따라서, NMDAR은 조절자이며 Ca^{2+} 유입에 의해 조절된다. NMDAR을 가로질러 흐르는 Ca^{2+} 유입의 자극-유발 차등 패턴에 의한 NMDAR 발현의 (NMDAR 프레임워크) 이러한 조절은 신경 가소성의 기반이고 각 개인의 고유한 커넥톰의 기반이다. 따라서, 개인과의 각 환경 상호작용은 다른 NMDAR 프레임워크에 영향을 미쳐 다른 다운스트림 결과와 함께 다른 양의 Ca^{2+} 유입을 초래한다. 덱스트로메타돈은 NMDAR을 통한 과도한 (병리학적) Ca^{2+} 유입을 교정할 수 있다.

[0137] **예시**

[0138] **예시 1 - GluN1-GluN2A, -2B, -2C, -2D 세포 라인을 사용한 인간 NMDA 수용체에 대한 작용 형광 이미징 플레이트 리더(Fluorescence Imaging Plate Reader, FLIPR) 칼슘 분석의 모드**

[0139] 다음은 본 예시와 본 출원에서 사용되는 약자의 목록이다.

약자	정의 또는 확장 용어
AUC	곡선 아래 면적(Area under the curve)
CHO	중국 햄스터 난소(Chinese hamster ovary)
CRC	농도 반응 곡선(Concentration response curve)
DMSO	디메틸 술폭시드(Dimethyl sulfoxide)
FLIPR	형광 이미징 플레이트 리더(Fluorescence imaging plate reader)
Gly	글리신(Glycine)
GLP	좋은 실험실 관행(Good laboratory practice)
K_B	추정된 시험 항목 평형 해리 상수(Estimated test item equilibrium dissociation constant)
Log	밑이 10인 로그(Base 10 logarithm)
L-glu	L-글루타메이트(L-glutamate)
MW	분자 무게(Molecular weight)
NA	이용가능하지 않음(Not available)
NMDA	N-메틸-D-아스파테이트(N-methyl-D-aspartate)
NMDAR	N-메틸-D-아스파테이트 수용체(N-methyl-D-aspartate receptor)
QC	품질 제어(Quality control)
SEM	평균의 표준 오차(Standard error of the mean)
SOP	표준 작동 과정(Standard operating procedure)
α	추정된 시험 항목 협동성 항(Estimated test item cooperativity term)
τ	작용제 효능 값(Agonist efficacy value)

[0140]

[0141] A. 서론

[0142] 본 예시 1은 NMDAR 아형에서 덱스트로메타돈의 작용 메카니즘과 각 채널 아형에서 상대적인 효능을 입증하고, 다른 채널 차단제와 비교한다. 또한, 매우 낮은 주변 글루타메이트에 의해 유발되는 Ca^{2+} 유입에 영향을 미치는 덱스트로메타돈의 기능에 대해서도 알려준다. 여기서 개시된 다른 증거와 함께, 이는 본 발명자에 의해 설명된 MDD의 새로운 병태생리학을 (강장성 및 병리학적으로 활성화된 NMDAR을 통한 과도한 Ca^{2+} 유입) 확증한다.

[0143] 여기서 설명된 작용 FLIPR-칼슘 분석의 모드는 4가지 인간 재조합 NMDA 수용체 유형에서, L-글루타메이트 농도 반응 곡선 피팅 매개변수에 대한 6개의 선택된 농도에, 시험 항목 효과를 확립하도록 설계되었다: GluN1-GluN2A, GluN1-GluN2B, GluN1-GluN2C, GluN1-GluN2D.

[0144] B. 시험 및 제어 항목

[0145] 이 연구를 위해 5개의 시험 항목이 선택되었다: 덱스트로메타돈 염산염 (CAS# 15284-15-8, Padova 대학에서 공급); 메만틴 염산염 (CAS# 41100-52-1, Bio-Techne Tocris에서 공급); (±)-케타민 염산염 (CAS# 1867-669, Merck Sigma-Aldrich에서 공급); (+)-MK 801 말레에이트 (CAS# 77086-22-7, Bio-Techne Tocris에서 공급); 및 덱스트로메토르판 하이드로브로마이드 일수화물 (CAS# 6700-34-1, Merck Sigma-Aldrich에서 공급).

[0146] 사용된 비히클은 DMSO (CAS# 67-68-5; Merck Sigma-Aldrich에서 공급) 이었다.

[0147] 시험 항목 제형은 아래 도표 1에 도시된다.

표 1

[0148] 도표 1

제형의 성질	DMSO 용액
농도(DMSO에서 400x)	20 mM 5 mM 1.25 mM 312 μM 78 μM 19.5 μM

보관 조건 용해 이전 (고체상태): 용해 이후:	덱스트로메타돈 염산염의 경우 -20° C; 주변 온도/나머지 시험 항목에 대해 빛으로부터 보호 -20° C

[0149] C. 시험 시스템

[0150] 시험 항목은 이성질체 인간 NMDA 수용체(NMDAR)를 발현하는 4개의 CHO 세포 라인에서 L-글루타메이트 및 글리신 유도 칼슘 진입을 조절하는 능력에 대해 FLIPR에서 평가되었다: GluN-/GluN2A-CHO, GluN1-GluN2B-CHO, GluN1-GluN2C-CHO, GluN1-GluN2D-CHO.

[0151] D. 실험 설계

[0152] 연구는 고정된 10μM 글리신 농도의 존재 하에, L-글루타메이트 CRC에 대한 5가지 시험 항목의 효과를 모니터링하는 것을 목표로 하였다.

[0153] 각 시험 항목에 대해 6가지 농도가 시험되었다: 50μM, 12.5μM, 3.13μM, 0.781μM, 0.195μM, 0.049μM.

[0154] L-글루타메이트 11 포인트 CRC는 다음의 최종 농도를 포함하였다: 100mM, 1mM, 100μM, 10μM, 3.3μM, 1.1μM, 370nM, 123nM, 41nM, 13.7nM, 및 4.6nM.

[0155] 세포내 칼슘 수준의 FLIPR 측정은 NMDAR 활성화에 대한 판독값으로 사용되었다.

[0156] E. 방법 및 과정

[0157] 400x 화합물 플레이트는 Echo Labcyte 시스템에 의해 제조되었고, 모든 웰(well)에서 다음을 포함하였다: 300nl/well의 H_2O 내 400x L-글루타메이트/글리신 용액 및 300nl/well의 DMSO 내 400x 시험 항목 용액. 400x 화합물 플레이트는 FLIPR 실험일까지 -20° C에서 보관되었다.

[0158] FLIPR 실험일에 최대 30μl/well의 화합물 완충액을 첨가하여 400x 화합물 플레이트로부터 4x 화합물 플레이트를 생성하였다. 4x L-글루타메이트 용액은 400mM 농도에 대해서만 직접 제조되었고, 4x 화합물 플레이트의 컬럼 1 및 12에 분배하였다.

[0159] FLIPR 시스템은 NMDAR 세포 라인에서 세포 내 칼슘 수준을 모니터링하는데 사용되었고, Fluo-4로 1시간 동안 미리 로딩한 다음 분석 완충액으로 세척하였다. 세포 내 칼슘 수준은 L-글루타메이트 및 글리신의 존재하에, 시험 항목 추가 이전 10초 및 이후 5분 동안 모니터링되었다.

[0160] F. 데이터 처리 및 분석

[0161] 형광의 AUC 값은 시험 항목 추가 이후 5분 동안 칼슘 수준을 모니터링하기 위해, ScreenWorks 4.1 (Molecular Devices) FLIPR 소프트웨어에 의해 측정되었다. 이때, 데이터는 Excel 2013 (Microsoft Office) 소프트웨어로 정규화되었고, 10μM L-글루타메이트와 10μM 글리신이 추가된 웰을 (컬럼 23) 높은 대조군으로 사용하고 분석 완충액만 추가된 웰을 (컬럼 24) 낮은 대조군으로 사용하였다.

[0162] 플레이트 품질을 평가하기 위해, Z' 계산이 Excel에서 수행되었다. Z'는 다음의 식에 따라 계산되었다:

[0163] $$Z' = 1 - 3(\sigma_h + \sigma_l)/|\mu_h - \mu_l|$$

[0164] 여기서, μ 및 σ는 각각 높은(h) 및 낮은(l) 대조군의 평균 및 표준 편차이다.

[0165] 다른 실험 조건에서, L-글루타메이트 EC_{50} 및 최대 효과를 계산하기 위해 Prism 8 (GraphPad) 소프트웨어에서 4개의 매개변수 로그식이 사용되었다:

[0166] Y=Bottom + (Top-Bottom)/(1+10^((LogEC_{50}-Log[A])*HillSlope))

[0167] 여기서, Y는 L-글루타메이트의 % 효과이고 [A]는 L-글루타메이트 몰 농도이다.

[0168] 알로스테릭 조절제에 대한 작동 식은 (Leach K, Sexton PM 및 Christopoulos A, 알로스테릭 GPCR 조절제: 허용 수용체 약리학 활용 (Allosteric GPCR modulators: taking advantage of permissive receptor pharmacology), Trends Pharmacol. Sci. 28: 382-389, 2007; Kenakin TP, 작용제와 길항제의 수용체 상호작용 개요 (Overview of receptor interaction of agonists and antagonists), Curr. Protoc. Pharmacol. Chapter 4: Unit 4.1,

2008, Kenakin TP, 편향된 시그널링 및 알로스테릭 기계: 신약 개발을 위한 새로운 전망과 도전 (Biased signalling and allosteric machines: new vistas and challenges for drug discovery), Br. J. Pharmacol. 165: 1659-1669, 2012) 기공 차단제로서, 모든 시험 항목이 충분히 높은 농도에서 작용제 반응의 경쟁 차단을 생성할 수 있다고 가정하여, 모든 시험 항목에 대한 K_B 및 α 매개변수를 추정하도록 Prism 8 (GraphPad) 소프트웨어에서 생성되었다:

[0169] $$Y = E_{MAX}\frac{\frac{\tau[A]}{EC_{50}(\tau+1)}}{\left(\left(\frac{[A]}{EC_{50}(\tau+1)}\right)+\left(\frac{\tau[A]}{EC_{50}(\tau+1)}\right)\right)*\left(1+\frac{\alpha[B]}{K_B}\right)+\frac{[B]}{K_B}+1}$$

[0170] 여기서, Y는 L-글루타메이트의 % 효과이고; [A]는 L-글루타메이트 몰 농도이고; E_{MAX}는 4개의 매개변수 로그식에서 추정된 최대 가능한 L-글루타메이트 효과이고; EC_{50}은 4개의 매개변수 로그식에서 추정된 최대 유효 L-글루타메이트 농도의 절반이고; τ는 NMDAR에서 임의의 L-글루타메이트 효능 값이고 (EC_{50}에서 τ를 추정하는데 요구되는 인간 이성질체 NMDAR에서의 L-글루타메이트 해리 평형 상수에 대한 일관된 값이 없는 경우, 모든 수용체에 대해 τ = 100으로 설정); [B]는 시험 항목의 몰 농도이고; K_B는 추정된 시험 항목 평형 해리 상수이고; 또한 α는 수용체에서 L-글루타메이트 해리 평형 상수에 대한 시험 항목의 효과를 나타내는 추정된 협동성 항이다 (즉, α는 시험 항목의 부재 및 존재하에서 L-글루타메이트 평형 해리 상수 사이의 추정 비율이고, 작용제 평형 해리 상수에 영향을 미치는 음성 알로스테릭 조절제에 대해 $0<\alpha\leq1$일 것으로 예상된다).

[0171] % 친화도 비율은 K_B의 역수인 추정 친화도에서 계산되었고, NMDAR 아형에 대한 가장 높은 친화도를 100%로 간주한다.

[0172] G. 프로토콜 편차

[0173] L-글루타메이트 및 글리신의 400x 농축 용액의 제조는 DMSO에서의 불량한 L-글루타메이트 용해도로 인해, DMSO보다는 H_2O에서 발생하였다. 이 프로토콜 편차는 전체 해석에 영향을 미치거나 연구의 무결성을 손상시키지 않았다.

[0174] H. 결과

[0175] 1 플레이트 Z' 값

[0176] 모든 세포 라인에 대한 (GluN1-GluN2A, GluN1-GluN2B, GluN1-GluN2C, GluN1-GluN2D) 5개의 세포 플레이트는 모든 시험 항목을 포함하는 동일한 화합물 플레이트로 시험되었다.

[0177] 모든 세포 플레이트는 Z' 값 > 0.4를 제공하여 허용되었다.

[0178] 플레이트 1 내지 5에서 GluN1-GluN2A에 대한 Z' 값은 0.82, 0.80, 0.83, 0.83, 0.83 이고;

[0179] 플레이트 1 내지 5에서 GluN1-GluN2B에 대한 Z' 값은 0.80, 0.77, 0.77, 0.81, 0.83 이고;

[0180] 플레이트 1 내지 5에서 GluN1-GluN2C에 대한 Z' 값은 0.73, 0.53, 0.74, 0.71, 0.76 이고;

[0181] 플레이트 1 내지 5에서 GluN1-GluN2D에 대한 Z' 값은 0.70, 0.74, 0.65, 0.44, 0.64 이다.

[0182] GluN1-GluN2C 세포를 갖는 추가 5개 세포 플레이트는 그 배치의 세포에서의 낮은 수용체 발현으로 인해 낮은 형광 값이므로 폐기되었다.

[0183] 2 L-글루타메이트 CRC

[0184] 10μM 글리신의 존재 하에 L-글루타민산 CRC는 모든 세포 라인에 대해 획득되었고, 상대적인 GraphPad Prism 플롯은 도 1에 도시된다. 데이터는 평균 ± SEM, n=5로 보고된다.

[0185] 100mM L-글루타메이트에서, % 형광 값은 GluN2D를 제외한 모든 세포 라인에 대해 현저하게 더 낮게 주어졌고, 형광의 시간-경과는 약 90초 동안 지속되는 초기의 일시적 피크와 함께 다른 모든 농도와 다르게 주어졌다. 이러한 일시적 피크는 모든 세포 라인, 특히 GluN2C 및 GluN2D 세포 라인에서 볼 수 있었고, 아마도 이들 세포에서의 NMDAR의 낮은 발현 수준으로 인해, 또한 낮은 수준의 NMDAR을 발현하는 세포의 GluN2C 배치에서 훨씬 더 많았기 때문일 수 있다 (도 2A 내지 도 2E의 궤적을 참조). 그러므로, 100mM L-글루타메이트가 그래프에 보고되

었지만 데이터 분석에서는 제거되었다.

[0186] 4개의 세포 라인에 대한 최적의 값은 도표 2에서 다음과 같이 주어진다:

표 2

[0187] 도표 2

	GluN2A	GluN2B	GluN2C	GluN2D
$LogEC_{50}$	-6.6	-6.9	-7.1	-7.5
EC_{50} (M)	2.5e-007	1.3e-007	8.7e-008	3.4e-008
HillSlope	1.0	1.3	1.5	1.6
Bottom	-0.62	1.7	0.88	5.3
Top	106	111	106	105
Span	107	109	105	99

[0188] 3 덱스트로메타돈

[0189] 4가지 NMDA 수용체 유형에서 L-글루타메이트 CRC에 대한 덱스트로메타돈 효과는 도 3A 내지 도 3D에 도시된다. 100mM L-글루타메이트 값은 피팅에 사용되지 않았다. 데이터는 평균 ± SEM, n=5로 보고된다.

[0190] 덱스트로메타돈 4개 매개변수 로그식 최적 값은 아래 도표 3 내지 도표 6에 도시된 바와 같이 GraphPad Prism 데이터 분석을 제공한다:

표 3

[0191] 도표 3

GluN2A	50 μM	12.5 μM	3.1 μM	781 nM	195 nM	49 nM	0 nM
Bottom	-1.4	-3.1	-2.0	-0.087	0.37	-0.13	-0.62
Top	35	84	98	103	98	103	106
$LogEC_{50}$	-6.4	-6.4	-6.6	-6.6	-6.6	-6.7	-6.6
HillSlope	1.4	1.0	1.0	1.1	1.1	1.0	1.0
EC_{50} (M)	4.1e-7	3.8e-7	2.8e-7	2.6e-7	2.3e-7	2.1e-7	2.5e-7

표 4

[0192] 도표 4

GluN2B	50 μM	12.5 μM	3.1 μM	781 nM	195 nM	49 nM	0 nM
Bottom	-0.34	-2.3	-3.6	0.52	0.68	0.43	1.7
Top	35	72	89	93	96	96	111
$LogEC_{50}$	-6.4	-6.7	-6.9	-6.9	-6.9	-7.0	-6.9
HillSlope	1.1	1.3	1.1	1.2	1.2	1.2	1.3
EC_{50} (M)	3.7e-7	1.8e-7	1.3e-7	1.4e-7	1.4e-7	1.1e-7	1.3e-7

표 5

[0193] 도표 5

GluN2C	50 μM	12.5 μM	3.1 μM	781 nM	195 nM	49 nM	0 nM
Bottom	4.5	1.7	1.2	5.3	2.9	4.3	0.88
Top	30	75	94	95	100	99	106
$LogEC_{50}$	-6.6	-6.7	-6.8	-6.8	-6.8	-6.8	-7.1
HillSlope	1.7	1.5	1.4	2.2	1.4	1.3	1.5
EC_{50} (M)	2.5e-7	2.1e-7	1.5e-7	1.4e-7	1.5e-7	1.5e-7	8.7e-8

표 6

[0194] 도표 6

GluN2D	50 μM	12.5 μM	3.1 μM	781 nM	195 nM	49 nM	0 nM
Bottom	-0.55	-5.6	1.1	2.6	5.3	5.1	5.3
Top	41	82	97	101	97	101	105
$LogEC_{50}$	-6.9	-7.1	-7.4	-7.5	-7.5	-7.5	-7.5
HillSlope	0.49	1.1	1.5	1.7	1.3	1.3	1.6
EC_{50} (M)	1.1e-7	7.1e-8	4.2e-8	3.4e-8	3.0e-8	2.9e-8	3.4e-8

[0195] 알로스테릭 조절제에 대한 작동 분석은 도표 7에 도시된 K_B, % 친화도 비율, 및 α 값을 제공한다:

표 7

[0196] 도표 7

세포 라인	K_B (M)	% 친화도 비율	α	
GluN2A	8.9e-6	51		0.22
GluN2B	6.1e-6	74		0.26
GluN2C	4.5e-6	100		0.17
GluN2D	7.8e-6	58		0.22

[0197] 4 메만틴

[0198] 4가지 NMDA 수용체 유형에서 L-글루타메이트 CRC에 대한 메만틴 효과는 도 4A 내지 도 4D에 도시된다. 100mM L-글루타메이트 값은 피팅에 사용되지 않았다. 데이터는 평균 ± SEM, n=5로 보고된다.

[0199] 메만틴 4개 매개변수 로그식 최적 값은 아래 도표 8 내지 도표 11에 도시된 바와 같이 GraphPad Prism 데이터 분석을 제공한다 (신뢰할 수 있는 피팅으로 간주되지 않는 값은 굵게 입력하고 밑줄이 그어진다):

표 8

[0200] 도표 8

GluN2A	50 μM	12.5 μM	3.1 μM	781 nM	195 nM	49 nM	0 nM
Bottom	1.5	-0.14	-0.58	1.1	1.3	0.84	-0.62
Top	36	68	83	96	92	95	106
$LogEC_{50}$	-6.1	-6.3	-6.4	-6.3	-6.5	-6.6	-6.6
HillSlope	1.6	1.3	1.1	1.2	1.2	1.1	1.0
EC_{50} (M)	8.0e-7	5.2e-7	4.0e-7	4.7e-7	3.4e-7	2.6e-7	2.5e-7

표 9

[0201] 도표 9

GluN2B	50 μM	12.5 μM	3.1 μM	781 nM	195 nM	49 nM	0 nM
Bottom	1.5	-0.073	-0.85	1.6	1.3	0.24	1.7
Top	19	43	64	79	84	88	111
$LogEC_{50}$	-6.4	-6.6	-6.6	-6.6	-6.7	-6.8	-6.9
HillSlope	2.1	1.5	1.1	1.7	1.4	1.1	1.3
EC_{50} (M)	4.3e-7	2.5e-7	2.3e-7	2.5e-7	1.8e-7	1.6e-7	1.3e-7

표 10

[0202] 도표 10

GluN2C	50 μM	12.5 μM	3.1 μM	781 nM	195 nM	49 nM	0 nM
Bottom	7.4	2.5	1.3	0.92	2.0	2.2	0.88
Top	11	20	49	76	85	92	106
$LogEC_{50}$	-6.3	-6.4	-6.5	-6.6	-6.9	-6.8	-7.1
HillSlope	6.1	1.1	1.2	1.4	1.5	1.4	1.5
EC_{50} (M)	5.5e-7	3.8e-7	3.0e-7	2.4e-7	1.3e-7	1.5e-7	8.7e-8

표 11

[0203] 도표 11

GluN2D	50 μM	12.5 μM	3.1 μM	781 nM	195 nM	49 nM	0 nM
Bottom	-97133	1.4	-1.3	1.1	-0.19	5.1	5.3
Top	19	26	59	87	89	94	105
$LogEC_{50}$	-37	-6.7	-7.1	-7.2	-7.3	-7.3	-7.1
HillSlope	0.14	1.5	1.3	1.4	1.3	1.4	1.6
EC_{50} (M)	1.6e-37	1.8e-7	8.0e-8	6.8e-8	4.8e-8	4.8e-8	3.4e-8

[0204] 알로스테릭 조절제에 대한 작동 분석은 도표 12에 도시된 K_B, % 친화도 비율, 및 α 값을 제공한다:

표 12

[0205] 도표 12

세포 라인	K_B (M)	% 친화도 비율	α	
GluN2A	3.6e-6	8		0.15
GluN2B	5.8e-7	48		0.094
GluN2C	2.8e-7	100		0.10
GluN2D	5.9e-7	47		0.13

[0206] 5 (±)-케타민

[0207] 4가지 NMDA 수용체 유형에서 L-글루타메이트 CRC에 대한 (±)-케타민 효과는 도 5A 내지 도 5D에 도시된다. 100mM L-글루타메이트 값은 피팅에 사용되지 않았다. 데이터는 평균 ± SEM, n=5로 보고된다.

[0208] (±)-케타민 4개 매개변수 로그식 최적 값은 아래 도표 13 내지 도표 16에 도시된 바와 같이 GraphPad Prism 데이터 분석을 제공한다:

표 13

[0209] 도표 13

GluN2A	50 μM	12.5 μM	3.1 μM	781 nM	195 nM	49 nM	0 nM
Bottom	0.99	0.48	-0.090	-0.20	0.62	0.98	-0.62
Top	38	66	87	97	96	100	106
$LogEC_{50}$	-6.2	-6.4	-6.4	-6.4	-6.5	-6.5	-6.6
HillSlope	1.9	1.3	1.1	1.0	1.2	1.2	1.0
EC_{50} (M)	6.7e-7	4.4e-7	4.0e-7	4.2e-7	2.8e-7	3.1e-7	2.5e-7

표 14

[0210] 도표 14

GluN2B	50 μM	12.5 μM	3.1 μM	781 nM	195 nM	49 nM	0 nM
Bottom	1.4	0.50	-0.64	-0.79	1.7	0.90	1.7
Top	24	44	70	80	92	98	111
$LogEC_{50}$	-6.3	-6.6	-6.6	-6.7	-6.8	-6.7	-6.9
HillSlope	2.0	1.4	1.1	1.2	1.4	1.4	1.3
EC_{50} (M)	4.7e-7	2.3e-7	2.3e-7	2.0e-7	1.8e-7	1.8e-7	1.3e-7

표 15

[0211] 도표 15

GluN2C	50 μM	12.5 μM	3.1 μM	781 nM	195 nM	49 nM	0 nM
Bottom	3.0	2.8	2.1	0.59	2.5	3.2	0.88
Top	6.2	20	65	80	95	97	106
$LogEC_{50}$	-6.4	-6.7	-6.6	-6.6	-6.8	-6.9	-7.1
HillSlope	2.5	2.0	1.2	1.3	1.5	1.5	1.5
EC_{50} (M)	4.1e-7	2.1e-7	2.3e-7	2.3e-7	1.6e-7	1.2e-7	8.7e-8

표 16

[0212] 도표 16

GluN2D	50 μM	12.5 μM	3.1 μM	781 nM	195 nM	49 nM	0 nM
Bottom	1.5	2.1	3.6	1.7	4.9	5.4	5.3
Top	7.1	45	81	93	97	98	105
$LogEC_{50}$	-6.7	-6.9	-7.1	-7.2	-7.3	-7.4	-7.5
HillSlope	2.0	1.6	1.8	1.4	1.5	1.6	1.6
EC_{50} (M)	1.9e-7	1.2e-7	7.5e-8	6.3e-8	4.7e-8	4.4e-8	3.4e-8

[0213] 알로스테릭 조절제에 대한 작동 분석은 도표 17에 도시된 K_B, % 친화도 비율, 및 α 값을 제공한다:

표 17

[0214] 도표 17

세포 라인	K_B (M)	% 친화도 비율	α	
GluN2A	4.3e-6	11		0.17
GluN2B	1.1e-6	42		0.14
GluN2C	4.6e-7	100		0.13
GluN2D	1.4e-6	33		0.15

[0215] 6 (+)-MK801

[0216] 4가지 NMDA 수용체 유형에서 L-글루타메이트 CRC에 대한 (+)-MK801 효과는 도 6A 내지 도 6D에 도시된다. 100mM L-글루타메이트 값은 피팅에 사용되지 않았다. 데이터는 평균 ± SEM, n=5로 보고된다.

[0217] (+)-MK801 4개 매개변수 로그식 최적 값은 아래 도표 18 내지 도표 21에 도시된 바와 같이 GraphPad Prism 데이터 분석을 제공한다 (신뢰할 수 있는 피팅으로 간주되지 않는 값은 굵게 입력하고 밑줄이 그어진다):

표 18

[0218] 도표 18

GluN2A	50 μM	12.5 μM	3.1 μM	781 nM	195 nM	49 nM	0 nM
Bottom	N.A.	-1.3	-1.5	-4.5	-7.4	-3.0	-0.62
Top	N.A.	0.21	6.1	35	53	67	106
$LogEC_{50}$	N.A.	-5.5	-5.6	-5.9	-6.4	-6.7	-6.6
HillSlope	N.A.	30	0.81	0.46	0.52	0.91	1.0
EC_{50} (M)	N.A.	3.4e-6	2.6e-6	1.3e-6	3.6e-7	2.0e-7	2.5e-7

표 19

[0219] 도표 19

GluN2B	50 μM	12.5 μM	3.1 μM	781 nM	195 nM	49 nM	0 nM
Bottom	1.7	-0.37	-1.3	-7.4	-0.47	-0.35	1.7
Top	1.6	0.88	1.1	9.5	22	47	111
$LogEC_{50}$	44	-4.9	-5.8	-7.2	-7.0	-7.0	-6.9
HillSlope	805	0.94	0.48	0.24	1.5	1.3	1.3
EC_{50} (M)	1.3e+44	1.2e-5	1.7e-6	6.6e-8	1.0e-7	9.5e-8	1.3e-7

표 20

[0220] 도표 20

GluN2C	50 μM	12.5 μM	3.1 μM	781 nM	195 nM	49 nM	0 nM
Bottom	8.4	4.9	-2.9	-1.6	2.2	2.8	0.88
Top	11	2.5	12	33	67	83	106
$LogEC_{50}$	-7.3	-6.9	-7.0	-6.9	-6.9	-6.9	-7.1
HillSlope	1.7	-18	0.36	0.97	1.9	1.6	1.5
EC_{50} (M)	5.0e-8	1.2e-7	1.0e-7	1.3e-7	1.2e-7	1.1e-7	8.7e-8

표 21

[0221] 도표 21

GluN2D	50 μM	12.5 μM	3.1 μM	781 nM	195 nM	49 nM	0 nM
Bottom	13	-1.0	-11	-20	1.1	1.5	5.3
Top	116593	1.3	5.5	40	74	87	105
$LogEC_{50}$	-23	-5.0	-7.7	-7.5	-7.3	-7.5	-7.5
HillSlope	-0.30	30	0.56	0.54	1.4	1.5	1.6
EC_{50} (M)	4.8e-24	9.6e-6	1.8e-8	3.4e-8	5.3e-8	3.1e-8	3.4e-8

[0222] 알로스테릭 조절제에 대한 작동 분석은 도표 22에 도시된 K_B, % 친화도 비율, 및 α 값을 제공한다:

표 22

[0223] 도표 22

세포 라인	K_B (M)	% 친화도 비율	α	
GluN2A	1.1e-7	44		0.87
GluN2B	4.8e-8	100		1.0
GluN2C	1.4e-7	34		0.39
GluN2D	1.5e-7	32		0.36

[0224] 7 덱스트로메토르판

[0225] 4가지 NMDA 수용체 유형에서 L-글루타메이트 CRC에 대한 덱스트로메토르판 효과는 도 7A 내지 도 7D에 도시된다. 100mM L-글루타메이트 값은 피팅에 사용되지 않았다. 데이터는 평균 ± SEM, n=5로 보고된다.

[0226] 덱스트로메토르판 4개 매개변수 로그식 최적 값은 아래 도표 23 내지 도표 26에 도시된 바와 같이 GraphPad Prism 데이터 분석을 제공한다 (신뢰할 수 있는 피팅으로 간주되지 않는 값은 굵게 입력하고 밑줄이 그어진다):

표 23

[0227] 도표 23

GluN2A	50 μM	12.5 μM	3.1 μM	781 nM	195 nM	49 nM	0 nM
Bottom	2.2	0.20	2.5	2.4	2.7	2.3	-0.62
Top	44	79	88	99	92	98	106
$LogEC_{50}$	-6.2	-6.4	-6.5	-6.4	-6.6	-6.6	-6.6
HillSlope	1.3	1.1	1.3	1.3	1.2	1.0	1.0
EC_{50} (M)	7.0e-7	3.8e-7	3.4e-7	3.8e-7	2.4e-7	2.6e-7	2.5e-7

표 24

[0228] 도표 24

GluN2B	50 μM	12.5 μM	3.1 μM	781 nM	195 nM	49 nM	0 nM
Bottom	0.49	-0.38	1.1	1.7	1.5	2.4	1.7
Top	32	57	74	88	92	95	111
$LogEC_{50}$	-6.2	-6.7	-6.7	-6.6	-6.7	-6.7	-6.9
HillSlope	0.83	1.2	1.3	1.3	1.1	1.2	1.3
EC_{50} (M)	5.9e-7	2.0e-7	2.1e-7	2.5e-7	2.1e-7	2.0e-7	1.3e-7

표 25

[0229] 도표 25

GluN2C	50 μM	12.5 μM	3.1 μM	781 nM	195 nM	49 nM	0 nM
Bottom	9.6	4.9	3.9	3.9	3.1	3.2	0.88
Top	13	26	67	86	97	95	106
$LogEC_{50}$	-6.8	-6.7	-6.7	-6.8	-6.8	-7.0	-7.1
HillSlope	3.0	1.5	1.6	1.6	1.4	1.3	1.5
EC_{50} (M)	1.6e-7	2.1e-7	1.9e-7	1.7e-7	1.5e-7	1.1e-7	8.7e-8

표 26

[0230] 도표 26

GluN2D	50 μM	12.5 μM	3.1 μM	781 nM	195 nM	49 nM	0 nM
Bottom	23	8.8	6.6	2.4	6.3	15	5.3
Top	31	59	87	99	91	93	105
$LogEC_{50}$	-6.8	-7.1	-7.3	-7.4	-7.5	-7.5	-7.5
HillSlope	1.9	1.7	1.9	1.7	1.4	1.7	1.6
EC_{50} (M)	1.6e-7	8.6e-8	5.6e-8	4.2e-8	3.1e-8	3.1e-8	3.4e-8

[0231] 알로스테릭 조절제에 대한 작동 분석은 도표 27에 도시된 K_B, % 친화도 비율, 및 α 값을 제공한다:

표 27

[0232] 도표 27

세포 라인	K_B (M)	% 친화도 비율	α	
GluN2A	9.6e-6	13		0.25
GluN2B	1.9e-6	63		0.13
GluN2C	1.2e-6	100		0.24
GluN2D	6.7e-6	18		0.34

[0233] I. 결론

[0234] 칼슘 동원에 대한 L-글루타메이트 효과는 NMDAR 이종이량체 수용체의 차별적 활성화를 나타내고, EC_{50} 순위 순서는 GluN2A > GluN2B ≥ GluN2C > GluN2D이고, EC_{50} 값은 각각 2.5e-7, 1.3e-7, 8.7e-8, 및 3.4e-8이다. 획득된 역가 순위 순서는 다양한 방법론을 사용하여 문헌에 설명된 것과 일치한다 (Paoletti P, Bellone C 및 Zhou Q, NMDA 수용체 서브유닛 다양성: 수용체 특성, 시냅스 가소성 및 질병에 대한 영향 (NMDA receptor subunit diversity: impact on receptor properties, synaptic plasticity and disease), Nat. Rev. Neurosci, 14: 383-400, 2013).

[0235] 100mM L-글루타메이트는 모든 세포 라인에서 약 90초 동안 지속되는 칼슘 일시적 피크를 나타냈고, 낮은 수준의 NMDAR을 발현하는 세포의 GluN2C 배치에서 더욱 분명하였다. 세포 내 칼슘 수준에 대한 100mM L-글루타메이트 효과는 NMDAR에 의해 매개되지 않고, 오히려 이러한 고농도 대사물에 대한 삼투 세포 반응에 의해 매개될 수 있다는 가설을 세울 수 있다. 100mM L-글루타메이트 유도 세포 내 칼슘 증가와 관련된 경로는 아직 조사되고 있다.

[0236] 6개의 선택된 농도에서, L-글루타메이트 CRC에 대한 5개의 시험 항목의 효과에 대해 조사하였다: 덱스트로메타돈, 메만틴, (±)-케타민, (+)-MK801, 및 덱스트로메토르판. 5개의 모든 시험 항목은 FLIPR 칼슘 분석에서 NMDAR 기공 차단제의 전형적인 특징인 극복할 수 없는 프로파일을 나타내었다. (+)-MK801은 다른 시험 항목과 비교하여, 모든 NMDAR 아형에 대해 가장 높은 추정 친화도를 제공했고, 모든 NMDAR 아형이 이미 781 nM인 상태에서 L-글루타메이트의 % 효과를 50% 미만으로 줄일 수 있었다. (+)-MK801 추정 K_B는 NMDAR 아형 중 임의의 하나에서 ≤150 nM을 나타내었다. 메만틴 및 (±)-케타민은 GluN2B, GluN2C, GluN2D의 메만틴 및 GluN2C의 (±)-케타민에 대해 서브-마이크로몰인 마이크로몰 범위의 K_B를 생성하였다. 덱스트로메타돈 및 덱스트로메토르판은 NMDAR 아형 중 임의의 하나와 함께 마이크로몰 범위에 있는 추정 K_B를 생성하였다.

[0237] 화합물 중 어느 것도 특정한 GluN2 서브유닛을 포함하는 NMDAR에 대해 선택적이지 않았지만, 대부분 GluN2 서브유닛 선호도를 나타내었다. 시험된 모든 화합물 중에서, 덱스트로메타돈은 가장 낮은 아형 선호도를 나타내었다. (+)-MK801을 제외한 모든 화합물은 서브유닛 GluN2A, B 또는 D를 포함하는 다른 아형과 비교하여 아형을 포함하는 GluN2C에 대한 선호도를 나타내었다. 예를 들어, NMDAR을 포함하는 GluN2C에 대한 추정된 % 친화도를 100% 고려하면, NMDAR을 포함하는 GluN2A에 대한 추정된 % 친화도는 각각 덱스트로메타돈, 덱스트로메토르판, (±)-케타민, 메만틴에 대해 51, 13, 11, 및 8%이다. (+)-MK801만이 NMDAR을 포함하는 GluN2B에 대해 약간의 선호도를 나타내었다.

표 28

[0238] 도표 28 - K_B 도표

KB (μM)				
시험 항목	GluN1/2A	GluN1/2B	GluN1/2C	GluN1/2D
덱스트로메타돈	8.9	6.1	4.5	7.8
덱스트로메토르판	9.6	1.9	1.2	6.7
(±)-케타민	4.3	1.1	0.46	1.4
메만틴	3.6	0.58	0.28	0.59
(+)-MK801 K_B	0.11	0.048	0.14	0.15

[0239] 형광 이미징 플레이트 리더(FLIPR) Ca^{2+} 분석: 칼슘 동원에 대한 L-글루타메이트 효과. 본 발명자는 10가지 농도에서 L-글루타메이트 효과를 조사하였다: 1mM, 100μM, 10μM, 3.3μM, 1.1μM, 370nM, 123nM, 41nm, 14nm, 및 4.6nM. 본 발명자는 6가지 농도에서 (50μM, 12.5μM, 3.1μM, 781nM, 195nM 및 49nM; 0의 농도도 또한 도시된다) 5가지 화합물의 (MK-801, 메만틴, 케타민, 덱스트로메토르판, 및 덱스트로메타돈) 상기 열거된 10가지 농도의 글루타메이트에 대한 (0의 농도에 추가로) 효과를 조사하였다. 도 8A 내지 도 12J는 다양한 농도에서 다양한 화합물의 L-글루타메이트에 대한 % 효과를 나타낸다.

[0240] 칼슘 동원에 대한 L-글루타메이트 효과는 NMDAR 이종이량체 수용체 아형의 차별적 활성화를 나타내고, EC_{50} 순위 순서는 GluN2A > GluN2B ≥ GluN2C > GluN2D이다. EC_{50} 값은 각각 NMDAR을 포함하는 GluN2A, GluN2B, GluN2C, 및 GluN2D에 대해 2.5μM, 1.3μM, 870nM, 및 340nM이다. 역가 순위 순서는 다양한 방법론을 사용하여 문헌에 설명된 것과 일치한다 (Paoletti 등, 2013).

[0241] EC_{50} e HillSlope(H)에 대한 값을 계산할 때, 본 발명자는 또한 다음 공식을 사용하여 ECF를 계산하였다 (여기서, 0<F<100, 예를 들어, 5, 10, 20, 30, 40, 90, 95, 99).

$$EC_F = \left(\frac{F}{100 - F}\right)^{\sqrt{H}} EC_{50}$$

[0242]

[0243] 본 발명자는 예시 1에서 NMDAR에 대해 보고된 EC_{50} e HillSlope 값을 적용하여 도표 29에 도시된 다음의 ECF 값을 얻었다.

표 29

[0244] 도표 29 - ECF 도표

F	R	ECF	H	Sub	ECF	H	Sub	ECF	H	Sub	ECF	H
5	2A	160nM	1	2B	140nM	1.3	2C	120nM	1.5	2D	54nM	1.6
10	2A	280nM	1	2B	240nM	1.3	2C	200nM	1.5	2D	86nM	1.6
20	2A	630nM	1	2B	450nM	1.3	2C	350nM	1.5	2D	140nM	1.6
30	2A	1.07μM	1	2B	680nM	1.3	2C	500nM	1.5	2D	200nM	1.6
40	2A	1.67μM	1	2B	950nM	1.3	2C	660nM	1.5	2D	260nM	1.6
50	**2A**	**2.5μM**	**1**	**2B**	**1.3μM**	**1.3**	**2C**	**870nM**	**1.5**	**2D**	**340nM**	**1.6**
90	2A	23μM	1	2B	7.05μM	1.3	2C	3.76μM	1.5	2D	1.34μM	1.6
95	2A	48μM	1	2B	13μM	1.3	2C	6.19μM	1.5	2D	2.14μM	1.6
99	2A	250μM	1	2B	45μM	1.3	2C	19μM	1.5	2D	6.01μM	1.6

[0245] 생리학적 상황에서, 흥분성 자극에 이어지는 세포로의 총 Ca^{2+} 유입은 글루타메이트에 의해 활성화된 다른 NMDAR 아형을 통한 Ca^{2+} 유입의 합이다. 또한, Ca^{2+} 유입은 일반적으로 이 예시 1에서 볼 수 있는 바와 같이, 최대 효과까지 L-글루타메이트의 농도에 따라 증가한다. 본 발명자의 실험에서, Ca^{2+} 유입에 대한 글루타메이트 농도의 최대(99%) 효과는 NMDAR 아형을 발현하는 GluN2A, GluN2B, GluN2C, 및 GluN2D 이종 세포에 대해 각각 250μM, 45μM, 19μM, 및 6μM에서 나타났다: 최대 효과 농도보다 높은 L-글루타메이트 농도에서, Ca^{2+} 유입은 증가하지

않고, 이는 또한 문헌에 설명된 것과 일치한다 (Paoletti 등, 2013).

[0246] ECF 도표(도표 29)에서, 더 낮은 글루타메이트 농도가 GluN2A 및 GluN2B 아형과 비교해 GluN2C 및 GluN2D 아형을 우선적으로 활성화한다는 것을 알 수 있다. GluN2C에 대한 덱스트로메타돈의 우선적 활성 (K_B 도표 - 도표 28) 및 뇌에서 GluN2C 아형의 발달 분포는 (Hansen 등, 2019) 잠재적으로 강장성 활성화된 (저농도 글루타메이트가 존재하고 Mg^{2+} 차단이 존재할 때, 휴지 막 전위에서) 병리학적 과활성 (인지 부작용의 결여에 의해 밝혀진 바와 같이, 예시 3을 참조) GluN2C 채널의 (또는 GluN2D 채널) 차단 가설을 지원한다. 글루타메이트/글루타민 순환 장애 및 과도한 잔류 세포외 시냅스 글루타메이트를 (매우 낮은 농도에서도) 갖는 기능장애 성상교세포는 (또는 기능 성상교세포 수의 감소) 과도한 Ca^{2+} 유입을 결정할 수 있으므로 (특히, 상기에 설명된 바와 같이, GluN2C 및 GluN2D 아형에서), MDD 및 관련 장애를 유발 및/또는 유지할 수 있는 (PAM 및 작용제의 유무에 관계없이) 감소된 신경 가소성과 함께 신경 손상을 초래하게 된다. 엔돌핀 경로의 강장성 및 병리학적으로 활성화된 뉴런 부분을 우선적으로 표적화함으로서 (쉐퍼딩 친화성(shepherding affinity), 예시 10), 덱스트로메타돈은 선택된 NMDAR에서 과도한 Ca^{2+} 유입을 하향 조절하고 엔돌핀 경로에서 세포 기능이 회복되어 예시 3에서 볼 수 있는 바와 같이, MDD가 개선된다.

[0247] 형광 이미징 플레이트 리더(FLIPR) Ca^{2+} 분석에서, 칼슘 동원에 대한 L-글루타메이트 효과는 생리학적 Mg^{2+} 차단 효과를 설명하지 않고 개방 채널 차단제의 GluN2C 및 GluN2D에 대한 생체 내 선호도가 1mM의 Mg^{2+}의 생리학적 존재에서 몇 배 향상된다는 점을 다시 지적해야 한다 (Kotermanski SE, Johnson JW. Mg2+는 알츠하이머 약물 메만틴에 NMDA 수용체 아형 선택성을 부여한다 (Mg2+ imparts NMDA receptor subtype selectivity to the Alzheimer's drug memantine). J Neurosci. 2009;29(9):2774-2779.). 또한, NMDAR 삼중-이성질체 (예를 들면, NR1-NR2A-NR2B) 및 NR3A-B 서브유닛을 포함하는 삼중 및 이중-이성질체는 시험되지 않았다. NR1의 다른 스플라이스(splice) 변형도 시험되지 않았다. 이러한 추가적인 NMDAR 잠재적 아형 및 이소형은 복잡성의 레이어를 추가하지만, 또한 점차적으로 더 정확한 다운스트림 결과로 Ca^{2+} 유입의 미세 조절 가능성을 추가한다 [NMDAR 프레임워크에 의해 결정된 역학을 사용하여, Ca^{2+} 세포 유입의 환경-유도 (자극-유도) 차등 패턴으로 상기에 정의된 후생유전 코드].

[0248] 다음은 이 FLIPR Ca^{2+} 분석 및 예시 2-7로부터 추론될 수 있는 9가지 포인트이다:

[0249] (1) Ca^{2+} 동원에 대한 L-글루타메이트 농도-의존적(M) 효과는 아형 종속 순위에 따라 NMDAR, A-D의 각 시험된 아형에 대해 달라진다. 다른 NMDAR 아형 및 삼중-이성질체와 같은 이소형 (예를 들어, NR1-NR2A-NR2B), 및 NR3A-B 서브유닛을 포함하는 이중 및 삼중-이성질체, 또한 NR1의 다른 스플라이스 변이체도 Ca^{2+} 동원 효과에 대해 차등 순위를 나타낼 가능성이 있다.

[0250] 다음은 알려진 잠재적 사량체 NMDAR 아형의 예이다 (사량체 구조와 최소 2개의 NR1 서브유닛을 필수로 고려하는 가능한 NMDAR 아형; 가능한 각 아형은 잠재적으로 고유한 기능적 특성과 발달 및 지역 분포를 가지고 있다):

[0251] (NR1-NR1 테트라호모머)

[0252] NR1-NR2A 디헤테로머

[0253] NR1-NR2A-NR2B 트리헤테로머

[0254] NR1-NR2A-NR2C 트리헤테로머

[0255] NR1-NR2A-NR2D 트리헤테로머

[0256] NR1-NR2B 디이테로머

[0257] NR1-NR2B-NR2C 트리헤테로머

[0258] NR1-NR2B-NR2D 트리헤테로머

[0259] NR1-NR2C 디헤테로머

[0260] NR1-NR2C-NR2D 트리헤테로머

[0261] NR1-NR2D 디헤테로머

[0262] NR1-NR3A 디헤테로머

[0263] NR1-NR2A-NR3A 트리헤테로머

[0264] NR1-NR2B-NR3A 트리헤테로머

[0265] NR1-NR2C-NR3A 트리헤테로머

[0266] NR1-NR2D-NR3A 트리헤테로머

[0267] NR1-NR3B 디헤테로머

[0268] NR1-NR2A-NR3B 트리헤테로머

[0269] NR1-NR2B-NR3B 트리헤테로머

[0270] NR1-NR2C-NR3B 트리헤테로머

[0271] NR1-NR2D-NR3B 트리헤테로머

[0272] NR1-NR3A-NR3B 트리헤테로머

[0273] (2) 주어진 시냅스에서 전체 시냅스 후 Ca^{2+} 유입은 시냅스 틈에 있는 L-글루타메이트의 농도/시간(M), 즉 시냅스 전 축삭 말단에 (또한 EAAT에 의한 클리어런스) 의해 방출되는 글루타메이트의 양의 (자극 의존적인) 함수이다.

[0274] (3) 시냅스 전 글루타메이트 방출의 양 이외에, 시냅스 후 세포에서의 Ca^{2+} 유입은 시냅스 틈에서 시냅스 후 세포막에 의해 발현된 NMDAR의 (또한, 생리적 상황에서의 AMPAR) NMDAR 프레임워크의 (NMDAR 밀도 및 시냅스 전 글루타메이트 방출에 가장 가까운 약 100nm 면적인 시냅스 "핫스팟(hotspot)" 내의 아형을 포함한 시냅스 후 글루타메이트 수용체의 밀도, 아형, 및 위치) 함수이다 (NMDAR 프레임워크는 시냅스 후 밀도와 밀접한 관련이 있다). AMPAR의 발현은 NMDAR의 전압 종속 활성화를 결정하게 된다 (Mg^{2+} 차단의 해제): 이 실험에서, Mg^{2+}의 부재는 전압 게이팅이 초과되었거나 필요하지 않다고 가정한다 (아형을 포함하는 GluN2C, GluN2D, 및 GluN3 서브유닛과 같이 Mg^{2+} 차단에 의존하지 않거나 덜 의존하는 NMDAR 아형이 있다: 덱스트로메타돈은 휴지 막 전위에서 NMDAR 채널 기공의 불완전한 Mg^{2+} 차단으로 인해 이러한 아형에서 활성 상태일 가능성이 있다). NMDAR 프레임워크는 시냅스 전으로 방출되고 주어진 시간 동안 시냅스 틈에 존재하는 주어진 양의 글루타메이트에 대한 (예를 들어, 잔류 주변 글루타메이트 및 성상교세포 및 EAAT의 잠재적 실패) 총 Ca2+ 유입을 (후생유전 코드) 결정하게 된다 (특정한 양의 Ca^{2+} 유입을 미세 조정한다).

[0275] (4) 보다 일반적으로, 총 Ca^{2+} 유입은 NMDAR 프레임워크에 도달하는 L-글루타메이트의 농도 및 EAAT에 의한 시냅스 틈으로부터의 글루타메이트 클리어런스의 시간 상수와 관련이 있다.

[0276] (5) Ca^{2+} 유입의 시냅스 후 패턴은 AMPAR, 및 더 중요하게 NMDAR을 포함한 글루타메이트 수용체의 조립에 필요한 것을 포함하여, 시냅스 단백질의 상대적 발현에 대한 총 Ca^{2+} 유입의 영향을 포함한 신경 가소성, 즉 LTP 및/또는 LTD에 대한 영향을 결정한다 (예시 2를 참조): 그러므로, 총 Ca^{2+} 유입은 NMDAR에 의해 조절되고 NMDAR을 조절한다. 이러한 작업 가설은 신경 가소성에 백본(backbone)을 부여하고 (LTP/LTD, 기억, 커넥톰, 개별성, 자기인식), 더 넓은 의미에서, 수정에서 죽음에 이르기까지 진행 중인 과정으로서 미세하게 조정된 Ca^{2+} 유입을 통해 유전자 코드의 NMDAR 중심 후생유전적 조절에 백본을 부여한다.

[0277] (6) Ca^{2+} 유입이 과도하면 (고농도/장시간 글루타메이트 노출 또는 글루타메이트 + PAM 또는 글루타메이트 + 작용제 또는 결함이 있는 글루타메이트 클리어런스), 세포 기능이 손상되고 (시냅스 단백질 생성 및 그에 따른 신경 가소성을 포함하여), 이 과도한 Ca^{2+} 유입이 특정 수준에 도달하면 세포가 세포자살(흥분독성)을 겪을 수 있다.

[0278] (7) Ca^{2+} 유입의 차등 패턴은 (주어진 시냅스에서 다른 NMDAR를 통한 Ca^{2+} 진입의 합) 다운스트림 효과를 조절한다. 일부 뉴런에서, 시냅스 후 (및 시냅스 전) 뉴론으로의 x mEq의 Ca^{2+} 유입은 [예를 들어, x= mEq의 Ca^{2+} 유입량은 상성 글루타메이트에 대한 EC100에 의해 결정 (예를 들어, 1mM, 시냅스 전 세포에 의해 방출되는 생리학적 양, 또는 GluN2D 아형이 완전한 활성화를 결정할 수 있으므로 상기에 본 발명자의 ECF 도표(도표 29)에 도시된 바와 같이, 6μM만큼 적은 양)] LTP, 즉 시냅스 강화를 결정한다. 동일한 뉴런에서, 시간이 지남에 따라 유지되는 x mEq의 Ca^{2+}를 넘는 Ca^{2+} 유입은 [예를 들어, x= mEq의 Ca^{2+} 유입량은 EC100 글루타메이트에 의해 결정 (예를 들어, 생리학적 1mM 또는 상기의 ECF 도표 - 도표 29 -에서 6μM만큼 적은)] 대신에 시냅스의 LTD와 약화를 결정할 수 있다. 다른 뉴런 및 다른 뇌 영역에서 가변적이고 다른 발달 단계에 (예를 들면, 발달 전환) 따른 NMDAR 프레임워크는 LTP 또는 LTD를 결정하는데 중요하다 (Sava A, Formaggio E, Carignani C, Andreetta F, Bettini E, Griffante C. NMDA-유도된 ERK 시그널링은 쥐의 피질 뉴런에서 NR2B 서브유닛에 의해 매개되고 발달 단계에 따라 양성에서 음성으로 전환된다 (NMDA-induced ERK signalling is mediated by NR2B subunit in rat cortical neurons and switches from positive to negative depending on stage of development). Neuropharmacology. 2012;62(2):925-932).

[0279] (8) FLIPR 분석에서 시험된 각 세포 라인은 하나의 NMDAR 아형을 과발현한다. 다른 세포 라인, 예를 들어 ARPE-19는 차등 밀도를 (NMDAR 프레임워크) 갖는 4가지 아형(A-D)을 (또한 다른 아형 및 다른 이소형도 가능하게) 모두 발현하고, 유사한 Ca^{2+} 동원 효과 및 다운스트림 효과를 위해 L-글루타메이트의 차등 농도(EC100)를 요구한다 (예시 2를 참조).

[0280] (9) 마지막으로, 시냅스 전 NMDAR 수용체는 또한 자극에 반응하는 시냅스 전 글루타메이트 방출의 양에 대한 조절 효과에 대해서도 중요하다.

[0281] 덱스트로메타돈 및 4개의 다른 시험 화합물은 각각의 이종 세포 라인이 4개의 다른 NMDAR 아형, A-D 중 하나를 발현할 때, L-글루타메이트 농도 반응 곡선(CRC), 11개 농도에서 선택된 6가지 농도에 (50μM, 12.5μM, 3.1μM, 781nM, 195nM, 및 49nM; 0도 도시된다) Ca^{2+} 유입에 미치는 영향에 대해 조사되었다. 덱스트로메타돈을 포함한 모든 테스트된 화합물은 테스트된 모든 NMDAR 아형(A-D)에 대한 덱스트로메타돈의 낮은 마이크로몰 범위에서 K_B(M)과 (수용체 친화도의 계산된 추정치) 함께, FLIPR 칼슘 분석에서 NMDAR 기공 차단제의 전형적이고 극복할 수 없는 프로파일을 나타내었다.

[0282] 동일한 FLIPR Ca^{2+} 분석에서, 본 발명자는 현재 FDA-승인된 NMDAR 기공 차단제 메만틴, 케타민, 및 덱스트로메토르판과 고친화성 실험 NMDAR 기공 차단제 +)-MK-801을 시험하였다. K_B 도표(도표 28)는 세포외 Mg^{2+}의 부재 하에 NMDAR 결합 친화도의 계산된 추정치를 보고한다.

[0283] 비록 덱스트로메타돈을 포함하는 모든 화합물이 일부 NMDAR 아형 선호도를 나타냈지만, 시험된 화합물 중 어느 것도 특정한 GluN2 서브유닛을 포함하는 NMDAR에 대해 선택적이지 않았다.

[0284] 본 발명자는 모든 시험된 FDA 승인 NMDAR 차단제 및 덱스트로메타돈이 2C 서브유닛을 포함하는 아형에 대한 상대적 선호도를 나타낸다는 것을 개시한다. 고친화성 난용성 NMDAR 차단제인 MK-801은 대신에 2B 서브유닛을 포함하는 아형에 대한 선호도를 나타낸다. 처음으로, 본 발명자는 덱스트로메타돈이 2C 서브유닛을 포함하는 아형에 대한 선호도를 갖는다는 것을 개시한다 (K_B 도표 - 도표 28). 동일한 도표에서, 본 발명자는 또한 덱스트로메타돈이 시험된 아형에 걸쳐 가장 적은 변동성을 갖는다는 것을 나타낸다: 이는 또한 예시 3에서 시사된 바와 같이, 안전성에 대한 중요한 특징이 될 수 있다 (MDD 유효 용량에서 위약과 유사한 부작용 프로파일). 상기의 ECF 도표(도표 29)에 도시된 바와 같이, 2C 및 2D 서브유닛을 포함하는 아형의 강장제 활성화에 요구되는 글루타메이트의 농도는 매우 낮으므로, 이러한 아형에서 덱스트로메타돈 작용의 잠재적 중요성을 시사한다.

[0285] 임상적으로 더 나은 내약성인 NMDAR 채널 차단제, 덱스트로메타돈 및 덱스트로메토르판은, MDD를 치료할 수 있는 용량에서, 모든 아형에 대해 마이크로몰 범위의 K_B를 나타내지만, 또한 MDD를 치료할 수 있는 케타민은 GluN2C에 대해 나노몰 K_B를 (또한 덱스트로메타돈 및 덱스트로메토르판에 비해 GluN2D에 대해 약 5배 더 높은 친화도) 나타내므로, Glu2NC 및/또는 GluN2D의 과도한 차단은 MDD에 대해 에스케타민으로 치료받은 환자의 70% 이상에서 나타나는 해리 효과에 의해 제안된 바와 같이, 인지 부작용을 유발할 수 있음을 제시한다.

[0286] NMDAR을 포함하는 GluN2C에 대해 추정된 % 친화도가 100%라고 생각하면, NMDAR을 포함하는 GluN2A에 대해 추정된 % 친화도는: 덱스트로메타돈, 덱스트로메토르판, (±)-케타민, 메만틴에 대해 각각 51%, 13%, 11%, 및 8%이다.

[0287] MDD에 효과가 없는 메만틴은 GluN2B, GluN2C, 및 GluN2D에 대해 나노몰 K_B를 나타낸다.

[0288] 참고로, 승인된 모든 NMDAR 차단제는 GluN2A 아형에 대해 마이크로몰 K_B를 나타내지만, 임상적으로 내약성이 낮은 MK-801은 나타내지 않으므로, 이러한 아형이 인지 기능에 특히 중요할 수 있음을 제시한다. GluN2B 아형에 대한 MK-801의 높은 친화도에도 유사한 추론이 적용될 수 있다. GluN2A 및 GluN2B의 두 아형은 모두 GluN2C 및 GluN2D 아형과 비교해 생리학적 Mg^{2+} 차단에 매우 민감하여 채널 기공 차단제의 표적이 될 가능성이 적다: 채널이 이미 Mg^{2+}에 의해 완전히 차단된 경우, 다른 기공 차단제의 효과는 관련이 없을 수 있다.

[0289] MDD에 효과적인 세가지 NMDAR 차단제는 GluN2B에 대해 마이크로몰 K_B를 나타내지만, MDD에 비효과적인 메만틴은 GluNB에 대해 나노몰 K_B를 나타내고, 임상적으로 내약성이 낮은 MK-801도 또한 동일한 아형에 대해 낮은 나노몰 K_B를 나타낸다.

[0290] 이러한 데이터를 종합하면, MDD에 효과적인 임상적으로 내약성인 NMDAR 차단제는 GluN2C 및/또는 GluN2D 아형에 우선적으로 작용할 수 있지만, 이들은 GluN2A 및 GluN2B를 상대적으로 할애한다는 것을 제시한다. 참고로, MDD에 효과적인 임상적으로 내약성인 NMDAR 차단제의 이러한 할애는 생리학적 Mg^{2+} 차단으로 인해 생체 내에서 훨씬 더 관련이 있을 수 있다.

[0291] 예상대로, 고효능 채널 차단제인 (+)-MK-801은 모든 NMDAR 아형에 대해 가장 높은 추정 친화도를 나타내어, 이미 781nM에서 모든 NMDAR 아형으로 L-글루타메이트의 % 효과를 50% 미만으로 감소시켰다. (+)-MK-801 추정 K_B는 시험된 모든 NMDAR 아형에서 ≤150 nM을 나타내었다.

[0292] 시험된 다른 NMDAR 기공 차단제와 비교하여, 덱스트로메타돈은 K_B NMDAR 아형 선호도가 가장 낮았다. 2A 보다 GluN2C에 대한 약간의 선호도를 유지하면서 (덱스트로메토르판, 케타민 및 메만틴에 의해 공유되는 특성), NMDAR 아형 선택성의 상대적인 결여는 또한 MDD 치료 용량에서 위약과 구별할 수 없는 우수한 내약성 및 안전성 프로파일을 설명하는데 기여할 수 있다 (예시 3을 참조). MDD 치료 용량에서 위약과 구별할 수 없는 이러한 우수한 내약성 및 안전성 프로파일은 시험된 MDD 환자에서 [예시 3, SAFER로 선택된 환자 (Desseilles 등, Massachusetts General Hospital SAFER Criteria for Clinical Trials and Research. Harvard Review of Psychiatry. Psychopharmacology, September-October 2013; 21 (5) 1-6)], 생리학적으로 작용하는 NMDAR을 방해하지 않고, 덱스트로메타돈이 과활성 (병리학적 과활성) NMDAR만을 선택적으로 차단할 수 있으므로, NMDAR 차단제에 전형적인 인지적 부작용의 결여를 포함한 부작용이 없음을 시사한다 (치료 용량의 에스케타민으로 치료받은 MDD 환자의 70% 이상이 "해리성" 인지 부작용을 경험하고, 이는 이 약물이 대신에 생리학적으로 작동하는 NMDAR에 작용함을 제시한다). GluN2C 및 2D 아형은 낮은 농도의 글루타메이트에서 강장성으로 과활성 될 수 있다 (GluN2A 및 GluN2B와 비교하여, 본 발명자의 ECF 도표, 도표 29에서 볼 수 있는 바와 같이). 이 두 가지 아형 2A와 2B는 대신에 자극 의존적인 고농도 글루타메이트의 시냅스 전 방출에 의해 유발되는 위상 자극(탈분극)에 더 의존적이고 Ca^{2+} 유입을 허용하기 이전에 Mg^{2+} 차단의 방출을 요구한다 (Kuner T, Schoepfer R. 다중 구조 요소는 NMDA 수용체 채널에서 Mg^{2+} 차단의 서브유닛 특이성을 결정한다 (Multiple structural elements determine subunit specificity of Mg2+ block in NMDA receptor channels). J Neurosci. 1996;16(11):3549-3558). Mg^{2+} 차단의 존재하에서 GluN2C 및 GluN2D 강장제 Ca^{2+} 투과성은 (낮은 수준의) 이러한 아형에 대해 (특히, 케타민, 덱스트로메토르판, 메만틴 (모두 FDA 승인된 약물) 및 덱스트로메타돈에 대해 본 발명자의 FLIPR 분석에 의해 (Mg^{2+} 부재하에) 개시되고 질병-조절 효과에 대해 본 발명자가 개시한 작용 메카니즘을 확증하는 유형 GluN2C) 상대적인 선호도를 몇 배 향상시킨다 (Kotermanski 등, 2009).

[0293] 더 낮은 농도에서 GluN2C (및 GluN2D) 아형에 적용된 차단과 비교하여 더 높은 글루타메이트 농도에서 보이는 GluN2A 아형에 대해 덱스트로메타돈에 의해 적용된 상대적으로 더 적은 차단은 생리학적으로 위상적으로 활성인 NMDAR에 비해 병리학적으로 강장적으로 활성인 NMDAR에 대해 우선적인 효과를 시사한다 (상기 도표 및 예시 5를 참조).

[0294] 덱스트로메타돈의 우수한 안전성과 내약성에 대한 다른 잠재적인 설명은 덱스트로메타돈과 NMDAR의 상호작용의 "on" 및 "off"와 "트래핑(trapping)" 측면을 포함할 수 있다 (예시 6을 참조): 덱스트로메타돈은 이러한 실험에서 본 발명자에 의해 개신된 바와 같이 (예시 1, 도표 28, 및 예시 6, 파트 I), 케타민과 비교하여 10배 더 낮은 GluN-GluN2C NMDAR 아형 효능을 나타낸다: 덱스트로메타돈과 비교하여 1/10 케타민 농도에 대해 유사한 "온셋(onset)" (예시 6, 파트 I). 덱스트로메타돈은 "트래핑"에서 케타민과 일치한다 (예시 6, 파트 II). 이러한 발견이 메만틴의 더 낮은 "트래핑"과 비교될 때, 상대적으로 높은 "트래핑"과 상대적으로 낮은 마이크로몰 친화도가 모두 MDD에서 임상적으로 효과적인 약물 및 안전한 NMDAR 채널 차단제에 대해 바람직한 특징임을 제시한다. 상대적으로 낮은 "트래핑"을 갖는 메만틴은 (Mealing GA, Lanthorn TH, Small DL 등. N-메틸-D-아스파테이트 수용체 길항제에 대한 구조적 변형은 트래핑 차단에서 큰 차이를 초래한다 (Structural modifications to an N-methyl-D-aspartate receptor antagonist result in large differences in trapping block). J Pharmacol Exp Ther. 2001;297(3):906-914) MDD에 작동하지 않지만, 메만틴에 비해 친화도는 유사하지만 트래핑이 더 높은 약물인 케타민에 비해 상대적으로 내약성이 우수한 것으로 나타난다. 높은 효능 및 높은 "트래핑"을 모두 가진 케타민은 해리 효과를 갖는다. 케타민과 유사한 "트래핑"을 갖지만 효능이 더 낮은 덱스트로메타돈은 대신에 치료 용량에서 인지 부작용 없이 내약성이 좋다.

[0295] 또한, 치료 용량에서 인지 부작용이 없다는 것은 (예시 3을 참조), 생리학적 NMDAR 기능, 예를 들어 위상 Glu2A-D 활성이 덱스트로메타돈에 의해 영향을 받지 않았다는 것을 시사한다. 예시 6, 파트 III에서, 본 발명자는 Mg2+의 존재하에 낮은 글루타메이트 농도에서 덱스트로메타돈의 효과가 Mg^{2+}에 의해 적용되는 차단과 유사하게, 막 극성과 관련이 있음을 나타낸다. 이 새로운 개시는 또한 덱스트로메타돈에 대해 인지 부작용이 없음을 설명한다: 생리학적인 Mg2+와 마찬가지로 덱스트로메타돈은 NMDAR 활성화의 전압 게이트 위상 동안 Mg^{2+}와 같이, 휴지 전위 주변에서 가장 잘 작동하고 기공으로부터 배출된다.

[0296] 또한, 덱스트로메타돈은 PAM 및/또는 작용제의 유무에 관계없이 매우 낮은 농도의 글루타메이트에서 Ca^{2+} 유입 감소를 수행하여 (예시 5), Mg^{2+}의 존재하에 고농도의 글루타메이트가 주어질 때 그 작용이 생리학적 위상 NMDAR 기능을 포함하지 않을 수 있음을 다시 한 번 나타낸다. 생체 내에서 이러한 Ca^{2+} 유입 감소는 매우 낮은 농도의 글루타메이트가 AMPAR을 활성화하지 않기 때문에 GluN2A 및 GluN2B 아형과 관련되지 않을 수 있으므로 Mg^{2+} 차단을 완화하지 않고, 이러한 아형은 Mg^{2+}에 의해 차단되는 동안 Ca^{2+}에 대해 불투과성이지만 Mg^{2+} 차단으로부터의 상대적 독립성 (낮은 수준의 Ca^{2+} 투과성) 때문에 GluN2C 및 Glun2D와 관련이 있을 수 있다 (Kuner 등, 1996; Kotermanski 등, 2009). 종합하면, 이러한 발견과 관찰은 덱스트로메타돈의 효과가 GluN2C 및 GluN2D (예시 6, 파트 III) 및/또는 Mg^{2+} 차단에 의해 영향을 덜 받거나 받지 않는 다른 NMDAR 아형을 (예를 들면, GluN3 서브유닛을 포함하는 아형) 포함하여, 낮은 농도의 글루타메이트에 의해 강장적 및 병리학적으로 활성화된 NMDAR에 대해 우선적일 수 있음을 시사한다.

[0297] 더 단순하게, 생리학적 위상 높은 글루타메이트 농도에 의해 지시되는 바에 따라 다양한 자극에 반응하여 생리학적으로 개폐되는 전압 게이트 NMDAR은 덱스트로메타돈의 채널 차단에 의해 상대적으로 영향을 받지 않을 수 있다. 부가적으로, 덱스트로메타돈의 "on" 동역학은 (수 초) 자극 유발 Ca^{2+} 전류를 차단하기에 충분히 빠르지 않을 수 있고 (덱스트로메타돈에 대한 이러한 "on" 타이밍 가설은 예시 6, 파트 I에 의해, 또한 NMDAR GluN2D > GluN2C > GluN2B > GluN2A의 알려진 동역학을 따르는 다른 NMDAR 아형에 대한 덱스트로메타돈의 Ca^{2+} 유입 차단 순위에 의해 지원된다: 자극에 이어서 더 오래 열려 있는 아형은 더 효과적으로 차단될 수 있으므로 이러한 채널을 통한 Ca^{2+} 유입은 덱스트로메타돈에 의해 더 효과적으로 감소된다) (예시 1), 덱스트로메타돈의 차단 활성의 원인은 휴지기 막 전위에 있을 가능성이 더 높다. 그러므로, 덱스트로메타돈은, 겐타마이신 및/또는 퀴놀린산의 존재 또는 부재하에 또한 Mg^{2+} 차단의 부재하에 0.04 및 0.2 microM L-글루타메이트에서의 예시 5에서 볼 수 있는 바와 같이, PAM 및 다른 작용제의 존재 여부에 관계없이, 강장적 및 병리학적 과활성 NMDAR에 대해, 즉 만성적으로 낮은 농도의 글루타메이트에 의해 강장적으로 활성화되는 NMDAR에 대해 잠재적으로 선택적이다.

[0298] 짧은 시간 동안 L-글루타메이트의 생리학적 농도는 (예를 들어, 위상 글루타메이트 1mM)(글루타메이트의 생리적 붕괴 시간 상수는 1ms이다), MDD의 치료에 효과적인 용량에서 덱스트로메타돈의 인지 부작용의 결여 (예시 3) 및 덱스트로메타돈 작용에 요구되는 긴 "온셋"에 의해 (예시 6) 시사된 바와 같이, 대신에 덱스트로메타돈에 의

해 영향을 받지 않는다. 케타민에서 볼 수 있는 GluN2C 아형에 대한 선호도는 나노몰 범위에 있고, 덱스트로메타돈 및 덱스트로메토르판과 비교하여 모두 마이크로몰인 이 차이는 MDD에 대한 치료 용량에서 케타민의 해리 효과를 설명할 수 있다. 덱스트로메타돈의 효과는 PAM 및/또는 작용제가 추가되었을 때도 분명하였다 (예시 5를 참조). Ca^{2+} 유입의 하향조절에 대한 덱스트로메타돈의 효과는 PAM의 (예를 들면, 겐타마이신, 예시 5) 존재 또는 부재하에서, 또는 퀴놀린산과 같은 작용제 물질의 존재 또는 부재하에서 모두, 원인이 글루타메이트의 반복적인 시냅스 전 방출인 경우에서 뿐만 아니라, 만성 낮은 글루타메이트 세포외 농도가 흥분독성에 의해 매개될 수 있고 따라서 잠재적으로 덱스트로메타돈으로 예방할 수 있는 세포자멸사를 포함하여 성상교세포 기능장애 또는 사망을 포함한 여러가지 이유 때문의 결함적 클리어런스로 인한 (예를 들면, 결함적 EAAT 활성에 의한) 경우에서도 분명할 수 있다. 여기서 주어진 덱스트로메타돈의 효과는 다음과 같다:

[0299] (1) 덱스트로메타돈은 FDA 승인 NMDA 채널 차단제 케타민, 덱스트로메토르판, 및 메만틴과 유사하게, 극복할 수 없는 NMDAR의 차단을 수행한다 (예시 1).

[0300] (2) 덱스트로메타돈은 MDD 환자에서 위약에 비교가능한 부작용을 갖는 용량에서 신속하고 강력한 치료 효과를 수행하여 (예시 3을 참조), 병리학적 과활성 NMDAR에 대한 선택성을 시사한다.

[0301] (3) MDD에 대한 덱스트로메타돈의 치료 효과는 수용체 점유를 넘어서 치료 중단 이후에도 지속되어 (예시 3을 참조), 수용체 점유를 넘어서 (NMDAR 이외의 수용체 점유 이상을 포함하여) 지속되는 신경 가소성 효과를 시사한다.

[0302] 상기 포인트로부터, 본 발명자는 적어도 MDD로 진단된 환자의 서브세트에 대해 장애가 과활성 NMDAR을 통한 과도한 Ca^{2+} 유입에 의해 잠재적으로 유발된다는 결론을 내린다. 이러한 과도한 Ca^{2+} 유입은 감정 상태의 기억과 관련된 선택 회로의 선택된 뉴런 일부에서, 시냅스 가소성을 포함한 (시냅스 단백질의 항상성 생성 및 조립 또한 BDNF의 방출이 손상된) 신경 기능을 손상시킨다 (감정 상태의 새로운 기억을 형성할 때 이러한 손상은 기분 장애의 결정 요인이 될 수 있다). 비경쟁적 채널 차단제에 (덱스트로메타돈, 케타민, 덱스트로메토르판) 의해 수행되는 과도한 Ca^{2+} 유입의 차단은 과도한 Ca^{2+} 유입을 하향조절하고, NMDAR 단백질의 합성을 포함하여 신경 가소성을 회복한다 (예시 2). 환경 자극이 회복된 시냅스 능력으로 (기능적 수용체로서 조립 및 발현 준비가 된 시냅스 단백질 및 방출 준비가 된 BDNF) 엔돌핀 경로 내의 뉴런에 도달하면, 새로운 감정적 기억이 생성되고 MDD 표현형이 가라앉는다. NMDAR의 과도한 개방은 과도한 자극-유발 시냅스 전 글루타메이트 방출 (예를 들면, 심리적 스트레스 요인) 및/또는 감소된 글루타메이트 클리어런스로 (EEAT 결핍, 성상교세포 병리) 인해 유발되거나, 또는 NMDAR 과활성이 예시 5에서 겐타마이신으로 나타내진 바와 같이, PAM 또는 작용제에 의하거나 과량의 글루타메이트와 PAM 또는 퀴놀린산과 같은 작용제의 조합으로 인해 유발될 수 있다. 따라서, "과도한" 글루타메이트의 개념은 생리적 및 단계적 동작 동안, 짧은 시간에 (예를 들면, 1ms) 도달하는 농도 보다는 (예를 들면, 1mM), 노출 시간에 (병리학적 및 강장적 활성화) 더 관련될 수 있다. 덱스트로메타돈은 알려진 이독성 및 신독성 물질인 PAM 겐타마이슨에 의해 (예시 5) 유발된 Ca^{2+} 유입을 효과적으로 감소시키므로, PAM이 CNS 세포를 포함한 다른 세포에 가해지는 이러한 독성 및 유사한 독성을 잠재적으로 예방할 수 있다. 따라서, 유사하게, MDD (또는 다른 장애 및 질병) 환자의 서브세트에서, 정서적 기억의 가소성에 관련된 뉴런에 대해 선택적일 수 있는 (예를 들면, 아편유사제), NMDAR의 하나 이상의 알려진 (예를 들면, 모르핀) 또는 아직 알려지지 않은 PAM은 (또는 작용제) 장애 또는 질병을 유발하거나 유지하는 것과 관련될 수 있다. 덱스트로메타돈은 PAM 및 NMDAR의 작용제에 의해 결정된 과도한 Ca^{2+} 진입을 효과적으로 상쇄시킨다 (예시 5).

[0303] 또한, 덱스트로메토르판은 PBA 치료를 위해 FDA 승인되었고 (퀴니딘과 조합하여), 이는 적어도 가성구 증후군으로 고통받는 환자의 세브세트에 대해, 과활성 NMDAR을 통한 과도한 Ca^{2+} 유입이 감정적 "기억" 회로의 필수적인 부분인 감정 표현(감정)을 조절하는 회로의 선택된 뉴런 일부에서 신경 기능을 (신경 가소성을 포함하여) 손상시킨다는 것을 제시한다.

[0304] 마지막으로, 본 발명자의 FLIPR Ca^{2+} 분석에서도 시험된 메만틴은 덱스트로메타돈과 유사하게 비경쟁적인 (극복할 수 없는) NMDAR 채널 차단제 작용을 수행한다 (본 예시 1에 도시된 바와 같이). 메만틴은 중등도에서 중증 치매의 치료를 위해 FDA 승인되었고 이러한 환자에서 과활성 글루타메이트성 경로를 선택적으로 조절하는 것으로 생각된다 [Cacabelos R, Takeda M, Winblad B. 치매의 글루타메이트성 시스템과 신경변성: 알츠하이머병의 예방 전략 (The glutamatergic system and neurodegeneration in dementia: preventive strategies in Alzheimer's disease). Int J Geriatr Psychiatry. 1999 Jan;14(1):3-47]. 본 발명자는 적어도 알츠하이머병을

앓고 있는 환자의 서브세트에 대해, 과활성 NMDAR을 통한 Ca^{2+}의 과도한 유입이 인지 메모리의 측면에 관련된 선택 회로의 선택된 뉴런 일부에서 신경 기능을 (신경 가소성을 포함하여) 손상시킨다고 가정할 수 있다. 알츠하이머병의 과-글루타메이트성 상태는 이들 환자에게서 보이는 베타-아밀로이드 증가와도 비교가능하다 (Zott B, Simon MM, Hong W, 등. β 아밀로이드-의존성 신경 과활성화의 악순환 (A vicious cycle of β amyloid-dependent neuronal hyperactivation). Science. 2019;365(6453):559-565).

[0305] 상기의 모든 증거는 임상적으로 내약성인 NMDAR 비경쟁 채널 차단제가 NMDAR 기능장애에 의해 유발되거나 유지되는 다양한 질병 및 장애에 대해 잠재적으로 치료적일 수 있음을 시사한다. 알려진 모든 제제 중에서, 덱스트로메타돈은 치료 용량에서 예시 3에 나타난 바와 같이, 유리한 PK 및 PD 프로파일로 인해 매우 유용할 수 있다. 본 발명자는 처음으로 덱스트로메타돈의 질병-조절 효과를 개시하고 이러한 새로운 효과를 설명하기 위한 새로운 메카니즘을 제공한다 (예시 1-11). 본 발명자에 의해 개시된 바와 같이, 모든 NMDAR 채널 차단제에 의해 수행되는 일반적인 치료 작용은 과활성 NMDAR을 통한 Ca^{2+}의 과도한 유입을 하향조절하는 것이다. 과도한 Ca^{2+} 유입은 선택 회로의 선택된 뉴런 부분에서 신경 가소성 메카니즘을 손상시킨다. NMDAR 채널의 개방과 이어지는 Ca^{2+} 유입은 글루타메이트 농도에 의존하지만 (예시 1에 나타난 바와 같이), 생리학적 상황하에서, 짧은 시간 동안 (예를 들어, 1ms) 고농도의 글루타메이트는 과도한 (병리학적) Ca^{2+} 유입을 유발하지 않는다. 반면에, 만성 (강장성) 저농도의 글루타메이트는 대신에, 특히 예를 들어 Mg^{2+} 차단에 의해 100% 게이트화되지 않는 (채널 기공 내 Mg^{2+} 존재하에서 낮은 수준의 Ca^{2+} 투과성), 완전하지 않은 전압 게이트 NMDAR을 통해, 시간이 지남에 따라 과도한 (병리학적) Ca^{2+} 유입을 유발할 수 있다. 덱스트로메타돈은 하나 이상의 PAM 또는 작용제의 존재 또는 부재를 포함하여 (예시 5), 강장적으로 과활성화된 NMDAR, 특히 NR1-GluN2C 및 NR-1GluN2D 또는 NR1-GluN3 아형에 대해 선택적으로 작용할 가능성이 있다 (예시 3, 치료 용량에서의 부작용이 없는).

[0306] 또한, 덱스트로메타돈의 경우, 본 발명자는 구조된 신경 가소성의 메카니즘 중 하나가 선택된 NMDAR 서브유닛의 조절임을 처음으로 나타낸다 (NR1 및 NR2A 서브유닛의 전사 및 합성의 향상, 예시 2). 이러한 발견은 다양한 질병 및 장애를 치료, 예방 및 진단하는데 덱스트로메타돈의 잠재적인 치료 효과를 설명하는데 기여할 뿐만 아니라, 신경 가소성의 기본 메카니즘을 밝혀준다: Ca^{2+} 유입 패턴은 NMDAR에 의해 조절될 뿐만 아니라 NMDAR 합성 및 발현을 차례로 조절하므로, 환경적 (후생유전적) 자극에 (G+E 패러다임) 의해 지시되는 신경 가소성을 포함하여, 지속적으로 (수정에서 사망까지) 진화하는 가소성의 개념에 대한 분자 기반을 제공한다.

[0307] 상기의 증거를 기반으로, 본 발명자는 신경 가소성에 대한 일반적인 코드가 (LTP/LTD, 기억, 커넥톰, 개별성, 자기 인식) NMDAR에 의해 조절될 뿐만 아니라, 차례로 NMDAR을 조절하는 Ca^{2+}의 차등 패턴에 의해 표현된다고 가정한다. 각각의 후속 자극은 (시냅스 전 뉴런에 의한 글루타메이트 방출) 시냅스 후 뉴런에 의해 다르게 수신되고 (다른 패턴의 Ca^{2+} 진입을 초래하게 되고), 그에 따라 신경 가소성에 고유한 효과를 갖게 된다. Ca^{2+} 패턴의 이러한 항상 차별된 (고유한) 효과는 개인의 수명 동안 지속적으로 (다른 자극의 배열이 뉴런에 도달하는 주어진 순간에) 일어나고 (Ca^{2+} 유입의 각 패턴은 NMDAR 프레임워크에 대한 그 영향으로 인해 이전 패턴 및 후속 패턴과 다르다), 개인의 끊임없이 재구성되는 커넥톰을 (기억) 결정하므로, 개별성과 의식을 결정한다.

[0308] J. 결론

[0309] (1) FLIPR 칼슘 분석은 GluN1과 GluN2A, GluN2B, GluN2C, 또는 GluN2D 서브유닛 중 하나를 포함하는 이종체 인간 재조합 NMDAR에서 덱스트로메타돈, 메만틴, (±)-케타민, (+)-MK801, 덱스트로메토르판의 극복할 수 없는 프로파일을 나타냈다. 특정한 GluN2 서브유닛에 대한 차등적 선호도도 또한 나타내었다.

[0310] (2) 덱스트로메타돈은 예시 1에서 볼 수 있는 바와 같이, 낮은 친화도의 (계산된 K_B로 표시되는 낮은 마이크로몰) 비경쟁 (극복할 수 없는) 차단제로 작용한다. 이러한 발견은, 예시 2-11의 결과와 함께, 과도하게 자극되고 병리학적으로 과활성인 NMDAR에 대한 덱스트로메타돈의 선택성을 시사한다.

[0311] (3) 글루타메이트의 농도에 따라 NMDAR을 통한 Ca^{2+} 유입의 덱스트로메타돈 차등 조절은 (예시 1) 예시 5에 요약된 발견에 의해 확인된 바와 같이 다른 작용제를 포함하는 독소, PAM을 포함하여, NMDAR을 잠재적으로 활성화하는 다른 자극에 대해 유사한 메카니즘을 제시한다: 과-자극된 NMDAR은 (과도한 Ca^{2+} 유입과 함께, 병리학적 과활성인) 생리학적으로 활성인 NMDAR보다 더 효과적으로 차단된다. 덱스트로메타돈은 (또한 본 발명자에 의해 개시

된 잠재적으로 다른 NAM) 다른 자극의 (글루타메이트와 PAM 및 독소) 합산으로부터의 Ca^{2+} 유입에 대한 순 효과가 과도할 때, 연장된 (강장제) 개방의 경우에만 기공을 차단할 수 있다.

[0312] (4) 시험된 다른 NMDAR 기공 차단제와 비교하여, 덱스트로메타돈은 더 낮은 효능과 최소 K_B NMDAR 아형 변동성을 나타내었다 (예시 1에서). 덱스트로메타돈 기공 채널 차단의 NMDAR 선택성의 이러한 상대적인 결여는 과활성 (강장적 및 병리학적 과활성) NMDAR의 서브세트만을 추정상 선택적으로 차단함으로서, MDD를 (예시 3, MDD) 효과적으로 치료하는 용량에서 우수한 내약성 및 안전성 프로파일을 (위약과 구별할 수 없는) 설명하는데 잠재적으로 기여할 수 있다 (상기의 포인트 1-2와 함께).

[0313] (5) 포인트 3에도 불구하고, 상대적인 2C 선호도가 있다. 아형 2C 선호도는 덱스트로메타돈의 활성이 병리학적 및 강장적으로 과활성인 2C 아형에 대해 우선적임을 시사한다 [탈분극 및 Mg^{2+} 차단에 의해 조절되는 생리학적으로 기능하는 수용체의 개폐가 초 단위와 비교해 (예를 들면, NR1-NR2D 아형) 밀리세컨드 단위로 측정되어 (예를 들면, NR1-NR2A 아형) 훨씬 빠르기 때문에, 덱스트로메타돈 대한 on/off 동역학은 (예시 6) 분자를 강장성 과활성 채널로 제한할 수 있다 (Hansen 등, 2018)]. 2C 및 2D 서브유닛-함유 아형에 대한 선호도는 이러한 아형에서의 상대적으로 더 낮은 Mg^{2+} 차단의 존재에 의해 생체내에서 향상된다 (Kotermanski 및 Johnson 2009; 예시 6). 또한, 덱스트로메타돈에 대한 "on"/"off" 동역학은 (예시 6) 그것이 단계적으로 작동하는 NMDAR의 훨씬 더 빠른 활성화/비활성화에 영향을 미치지 못할 수 있음을 제시한다. GluN1-GluN2A, GluN1-GluN2B, GluN1-GluN2C, GluN1-GluN2D 아형의 단계적 개방은 각각 50msec, 400msec, 290msec, 및 2초 이상이다 (Hansen 등, 2018). 덱스트로메타돈에 대한 "온셋"은 수십 초로 측정되어 (예시 6), 이 분자가 자극-유발된 단계적 개방 동안 개방 채널에 들어갈 가능성이 거의 없다. 그러나, GluN1-GluN2C 및 GluN1-GluN2D 아형이 (또는 N3 서브유닛을 포함하는 아형) NMDAR 채널 내에 Mg^{2+} 존재하에서 휴지 막 전위에 과도한 내부 Ca^{2+} 유입을 허용할 때, 덱스트로메타돈은 이러한 과도한 Ca^{2+} 유입을 잠재적으로 차단할 수 있다 (예시 6).

[0314] **예시 2**

[0315] A. 개요

[0316] 본 예시의 실험 연구에서, 본 발명자는 (1) 인간 망막 색소 상피 세포의 막이 (세포 라인 ARPE-19) NMDAR 수용체 아형을 (GluN1GluN2A, GluN2B, GluN2C, 및 GluN2D) 발현하는지 여부; (2) 덱스트로메타돈이 L-글루타메이트-유도 세포독성을 완화시키는지 여부; (3) 덱스트로메타돈이 선택된 NMDAR 단백질 서브유닛의 전사와 합성을 조절하는지 여부; 또한 (4) 덱스트로메타돈이 NMDAR의 발현을 증가시키는지 여부를 결정하고자 하였다. 이후에 설명되는 실험은 덱스트로메타돈이 NMDAR의 막 발현 및 그에 따른 신경 가소성에 필수적인 NR1 서브유닛을 상향조절한다는 것을 입증한다.

[0317] B. 방법 및 결과

[0318] 1. ARPE-19 세포에서 NMDAR 아형의 발현

[0319] 먼저, 본 발명자는 공초점 현미경과 결합된 면역형광법에 의해 5개의 NMDAR 서브유닛(GluN1, GluN2A, GluN2B, GluN2C, GluN2D)의 발현을 평가하였다.

[0320] 7,500개 세포/웰을 멸균 유리 커버슬립의 24-웰 플레이트에 플레이팅하였다. 다음날, 면역형광 분석이 실시되었다. 다음의 1차 항체가 사용되었다: 항-NMDAR1A (Abcam, ab68144), 항-NMDAR2A (Bioss, bs-3507R-TR), 항-NMDAR2B (Bioss, bs-0222R-TR), 항-NMDAR2C (Invitrogen, PA5-77423) 및 항-NMDAR2D (Invitrogen, PA5-77425) 또한 2차 항체 염소 항-토끼 IgG (GeneTex, GTX213110-04). 면역염색된 세포의 이미지는 (도 13A 내지 도 13C를 참조) 63X 배율을 사용하여 공초점 현미경 Zeiss LSM 800으로 획득되었다. 형광 신호의 강도를 정량화하는데 ImageJ 소프트웨어가 사용되었다.

[0321] 2. 글루타메이트-유도 세포독성에 대한 덱스트로메타돈의 효과

[0322] ARPE-19 세포에서 L-글루타메이트-유도 세포독성에 대한 덱스트로메타돈의 효과를 확인하기 위해, 본 발명자는 세포 생존율 분석을 실행하였다. 이 실험을 위해, ARPE-19 세포는 96 웰 플레이트에 (7000개 세포/웰) 뿌려졌다. 이들은 5% CO_2가 있는 37° C 인큐베이터에 밤새 놓아두었다. 다음날, 세포는 덱스트로메타돈 용액으로 전처리되었다. 6시간 이후에, 모든 웰은 (대조군 세포를 제외하고) 트리스-완충된 대조군 염 용액(Control Salt Solution, CSS)에 용해된 10mM 농도의 L-글루타메이트로 교체되었다. 5분 후에, 노출 용액을 완전히 씻어

내고 표준 배양 배지로 교체하였다. 24시간의 휴식 시간 후에, 세포 생존력은 크리스탈 바이올렛 분석(crystal violet assay)에 의해 평가되었다. 본 발명자는 도 14에 도시된 바와 같이, 30 microM에서 시험된 덱스트로메타돈이 L-글루타메이트 처리에 의해 유도된 세포 생존율의 관찰된 감소를 상쇄하였음을 관찰하였다 [이는 NMDAR 작용제 L-글루타메이트 단독으로 (10mM L-Glu) 또는 덱스트로메타돈과 조합하여 처리한 후 ARPE-19 세포의 세포 생존력을 나타낸다. *** P <0.001 대 비히클로 처리된 대조군 세포 (Tukey의 사후 테스트로 이어지는 일방 ANOVA)].

[0323] 3. NMDAR 서브유닛의 단백질 발현에 대한 덱스트로메타돈의 효과

[0324] 본 발명자는 덱스트로메타돈이 NMDAR을 형성하는 선택된 단백질의 합성을 유도하는지 여부를 확인하기 위해 추가적인 면역세포화학적 연구를 실행하였다.

[0325] 이러한 추가 연구에서, 7,500개 세포/웰을 멸균 유리 커버슬립의 24-웰 플레이트에 플레이팅하였다. 다음날, 세포는 24시간 동안 10μM 덱스트로메타돈으로 처리되었고, 이어서 표준 배양 배지에서 5일 동안 구조하거나 연속 6일 동안 0.05μM의 덱스트로메타돈으로 처리되었다. 6일 후에, 공초점 현미경과 결합된 면역형광 분석이 상기에 설명한 1차 및 2차 항체로 실행되었다.

[0326] 결과는 도 15A 내지 도 15C에 도시된다. 6일 동안 덱스트로메타돈 0.05μM에 노출된 ARPE-19 세포는 NMDAR1 및 NMDAR2A 서브유닛에서 극적인 증가를 보인 반면, 본 발명자는 NMDAR2B 발현의 현저한 감소를 관찰하였다. 24시간 동안 덱스트로메타돈 10μM에 노출된 ARPE-19 세포도 또한 NMDAR1 및 NMDAR2A의 상당한 증가를 나타내었지만, 이 증가는 만성 배양에서 관찰된 증가에 비교해 덜 두드러졌다. NMDAR2B 서브유닛은 급성 치료로 변하지 않았다.

[0327] C. 논의 및 결론

[0328] 이 연구의 실험 작업을 기반으로, ARPE-19 세포는 시험된 모든 NMDAR 서브유닛을 (NMDAR1, NMDAR2A, NMDAR2B, NMDAR2C 및 NMDAR2D) 발현하고; 덱스트로메타돈은 ARPE-19 세포에서 글루타메이트 흥분독성을 예방하고; 또한 덱스트로메타돈은, 시험된 농도에서 (10μM 및 0.05μM), NR1 및 NR2A 서브유닛을 극적으로 상향-조절하지만, 효과가 없거나 (10μM) NR2B 서브유닛을 하향-조절하는 (0.05μM) 것으로 나타난다.

[0329] NMDAR 서브유닛에 대해 관찰된 조절 효과는 덱스트로메타돈 비경쟁적 NMDAR 차단 및 과도한 Ca^{2+} 유입의 하향-조절에 의해 잠재적으로 결정된다 (예시 1을 참조). 글루타메이트 자극이 없는 경우, 본 발명자는 덱스트로메타돈에 의해 상쇄되는 과도한 Ca^{2+} 유입이 ARPE-19 세포의 막에 발현된 NMDAR에 대한 빛의 작용제 효과에 의해 매개되는 것으로 가정한다.

[0330] 또한, 고농도 글루타메이트에 (10mM) 의해 과-자극된 병리학적 과활성 NMDAR을 통한 과도한 Ca^{2+} 진입은 ARPE-19 세포 생존력의 감소로 나타나는 흥분독성을 유발한다 (도 14에 도시된 바와 같이).

[0331] 본 출원에서 처음으로 개시된 덱스트로메타돈은 MDD로 진단된 환자에서 신속하고, 지속적이고, 또한 강력한 항우울 효과를 발휘하는 것으로 밝혀졌다 (이후에 예시 3을 참조). MDD의 치료 효과는 덱스트로메타돈의 갑작스러운 중단 이후 혈장 수준의 급격한 감소보다 더 오래 지속되는 것으로 나타나고 (예시 3에 도시된 바와 같이), 이는 신경 가소성-기반 작용 메카니즘을 제시한다.

[0332] 그리고, 본 출원에서 처음으로 개시된 덱스트로메타돈은 GluN2C 및 GluN2D 서브유닛을 포함하여, ARPE-19 세포에서 서브유닛을 차등적으로 조절하는 것으로 나타났다.

[0333] 잠재적으로 NMDAR 발현의 조절을 초래하게 되는 (NR1 서브유닛은 세포막에서 NMDAR 발현에 필수적이다) NMDAR 서브유닛의 전사 및 합성의 조절은 덱스트로메타돈 및 다른 경쟁력 없는 NMDAR 채널 차단제의 MDD 치료 효과에 대한 작용 메카니즘을 설명하는데 기여할 뿐만 아니라, NMDAR의 생리학적 및 병리학적 역할에 대한 중요한 통찰력을 제공할 수 있다. 본 발명자는 Ca^{2+} 유입의 차등 패턴이 글루타메이트 (PAM 또는 다른 글루타메이트 작용제의 유무에 관계없이) 또는 다른 자극에 (예를 들면, 빛) 의해 활성화된 NMDAR에 의해 조절되고, 이러한 Ca^{2+} 유입 패턴이 차례로 세포막에서 (NMDAR 프레임워크) NMDAR 발현을 조절한다는 것을 제시한다. 신경 가소성은 NMDAR을 (신경 가소성에 대한 공유된 후생유전 코드) 통한 Ca^{2+} 유입의 차등 패턴을 조절하고 그에 의해 조절된다 (코딩된다).

[0334] ARPE-19에서의 실험 결과를 기반으로, 본 발명자는 다른 글루타메이트 농도가 도 16에 도시된 바와 같이 작용할

수 있다고 가정한다.

[0335] NR1은 이 서브유닛이 모든 NMDAR 아형 NR1-NR2A, NR1-NR2B, NR1-NR2C 및 NR1-NR2D의 발현에 필요하기 때문에 신경 가소성의 척도로 선택되었다.

[0336] 도 16의 Y축은 가설 값을 나타내고, 여기서 8000 = NR1은 가장 낮은 환경 자극에서 (가설), "예를 들면, 암실, 빛에 노출되지 않음" 또한 0 또는 매우 낮은 nM 글루타메이트 농도에서; 10000 = NR1은 0.37μM의 글루타메이트 농도에서, 12000은 1-10mM까지 1.1에서: 이 글루타메이트 농도 주변에서, 특히 연장될 때, NR1은 (신경 가소성의 척도로서) 기준 수준 (글루타메이트 없는) 이하로 감소하기 시작한다.

[0337] 도 16의 X축은 다른 농도(M) 0.001; 0.37μM; 1.1μM; 3.3μM; 10μM; 50μM; 100μM; 300μM; 1mM; 5mM; 10mM; 50mM; 100mM에서 글루타메이트를 나타낸다.

[0338] 다른 글루타메이트 농도에서의 X 값 (글루타메이트 μM) 및 Y 값 (가설) NR1 서브유닛은 도 16의 범례에 도시된다.

[0339] 생체 내 Ca^{2+} 유입의 양은 시냅스 틈에서의 세포외 글루타메이트 농도가 상대적으로 낮은 경우에도, 예를 들어 GluN2C를 통한 낮은 nM, Mg^{2+} 차단에 상대적으로 둔감하고 강장적 및 병리학적으로 활성화된 NMDAR에도, "과도"할 수 있음을 (흥분 독성 및 신경 가소성 정지로 이어지는) 고려해야 한다.

[0340] 요약하면, (1) 덱스트로메타돈은 글루타메이트 유도 흥분 독성을 차등적으로 예방하고; (2) 덱스트로메타돈은 NMDAR 수용체 서브유닛의 합성 및 mRNA를 차등적으로 조절하고; 또한 (3) MDAR 수용체 서브유닛의 합성 및 mRNA의 덱스트로메타돈 유도는 다른 아형 및 자극 정도에 대해 차등적이다.

[0341] **예시 3**

[0342] A. 개요

[0343] 이 예시는 SAFER에 의해 선택된 MDD 환자에서 2회 용량의 덱스트로메타돈에 대한 2상 연구를 설명한다. 이 연구에 의해, 본 발명자는 덱스트로메타돈이 MDD에 대한 질병-조절 치료제로서 효과적임을 입증한다. 특히, 본 발명자는: (1) 덱스트로메타돈이 MDD 환자에서 안전하고 내약성이 우수하며, 부작용 프로파일이 질병-조절 용량에서 위약과 구별할 수 없고, 생리학적으로 활성인 NMDAR을 아끼면서 과-자극된 NMDAR에 (병리학적으로 과활성이고, 과도한 Ca^{2+} 유입이 있는) 대한 선택적 작용을 제시하고; 또한 (2) 덱스트로메타돈이 치료 중단 이후 최소 7일 동안 끊임없는 (지속적인) 치료 효과를 나타내고, 그 치료 효과가 NMDAR 또는 다른 수용체의 기공 채널 부위의 덱스트로메타돈 점유 이상으로 지속되는 신경 가소성 때문임을 시사하는 것으로 결정하였다.

[0344] 따라서, (1) LTP, LTD, 및 정서적 기억을 (예시 3에서 관심있는 기억의 서브세트) 포함하는 기억 형성에서 (Baez 등, 2018) NMDAR의 알려진 역할; (2) GluN2C 서브유닛을 포함하는 (예시 2) 시냅스 단백질의 생산을 위한 유전자 활성화에 대한, 덱스트로메타돈 (NMDAR를 통한 과도한 Ca^{2+} 유입 감소에 의해 매개되는), 특히 NMDAR GluN1-GluN2C 아형의 (예시 1) 효과; (3) BDNF를 포함하여, 실험적으로 또한 인간에서 모두, 신경영양 인자의 덱스트로메타돈으로 유도된 증가 ; (4) 실험적 우울 표현형 개선; 및 (5) 본 예시 3의 2상 연구 결과를 고려하여, 본 발명자는 덱스트로메타돈이 MDD에 대해 질병을 조절하여 잠재적으로 치료할 수 있음을 처음으로 결정하였다.

[0345] 그리고, 덱스트로메타돈이 NMDAR을 통한 Ca^{2+} 유입을 하향 조절하고 (예시 1을 참조) 차례로 NMDAR을 조절하기 때문에 (예시 2를 참조), 본 발명자는 건강하고 질병이 있을 때 신경 가소성에 대한 후생 유전적 코드로서 Ca^{2+} 유입의 차등 패턴의 역할에 대해 심오한 의미를 둔다.

[0346] 또한, 이러한 신규 결정의 관점에서, 본 발명자는 또한 이것이 세포 생리 활성 손상에 대한 과도한 Ca^{2+} 유입의 영향을 역전시킴으로서 세포막에서 NMDAR을 발현하는 선택 세포에서 (추가 CNS 세포를 포함하여) NMDAR 과잉자극/과활성 및 과도한 Ca^{2+} 유입에 의해 유발, 유지, 또는 악화되는 다양한 질병 및 장애에 적용될 수 있음을 개시한다. 뉴런의 경우, 신경 가소성과 관련된 세포 기능은 (LTP + LTD) 시험관 내에서 분자 수준에서 재개되는 것으로 본 발명자에 의해 보여졌다. 이는 MDD 환자에서 관찰된 치료학적 유효 용량에 대해 위약과 비교가능한 부작용 프로파일에 의해 시사된 바와 같이 (본 예시 3에서와 같이), 정상적으로 (생리학적으로) 기능하는 뉴런에 영향을 미치지 않고, 실험 모델 (예시 2를 참조) 및 환자 (예시 3을 참조) 모두에서 나타났다.

[0347] B. 건강 및 질병에서 덱스트로메타돈으로부터의 교훈

[0348] 상기에 요약된 덱스트로메타돈의 분자 작용은 병리학적 상태에서 뿐만 아니라 건강 상태에서 뇌 활동을 설명하는데 도움이 되고, 잠재적으로 과활성화된 NMDAR에 의해 유발, 유지 또는 악화되는 불균형 상태로, 건강과 질병 사이의 연속체 개념을 지원할 수 있다.

[0349] 본 개시는 덱스트로메타돈이 GluN1-GluN2C 병리학적 과활성 NMDAR 아형을 우선적으로 차단함으로서 강렬한 심리적 스트레스로 인한 잠재적인 CNS 손상으로부터 "정상적인" 건강한 피시험자를 보호할 수 있음을 보여준다 (예시 1). 충분한 수의 NMDAR이 충분한 시간 동안 (예를 들어, 스트레스 상태로부터 발생할 수 있는 것과 같이, 특정한 GluN2C 아형의 병리학적 강장제 활성화 동안), 이산 CNS 회로의 일부로 충분한 수의 뉴런에서 병리학적으로 과활성 상태일 때, 이러한 뉴런 및 그 회로는 손상되고 손상된 회로에 특정한 증상의 (질병 또는 장애) 클러스터가 나타나게 된다.

[0350] "정신 건강" (알로스테릭 조절제를 포함하여 과도하거나 비정상적인 자극에 의해 변경되지 않은 평형 정신 상태) 동안, 자극의 강도 및 빈도에 의해 (시냅스 전 글루타메이트 방출) 유발되는 Ca^{2+} 유입의 차등 패턴은 "정상적인" 시냅스 후 글루타메이트-프레임워크에 의해 조절된다. 이 프레임워크는 수정으로부터 주어지는 유전적 결정인자에 의존하고 [7개의 유전자: GRIN 1 (8개의 스플라이스 변형를 갖는), Grin2A, 2B, 2C 2D, 3A 및 3B], 동시에 후생 유전적 결정인자에 의존하므로, 수정에서 시작하여 프레임워크를 지속적으로 형성한다. 7개의 유전자에 의해 코딩되는 다른 서브유닛은 필수 NR1 서브유닛 (NMDAR의 막 발현에 필요한) 및 2A-D 및/또는 3A-B 서브유닛이 있는 사량체에서 조립된다. 글루타메이트 작용제 부위가 없는 3A 및 3B 서브유닛은 또한 사량체 구조에서 NR1 서브유닛을 잠재적으로 대체할 수 있다.

[0351] NMDAR을 포함한 Ca^{2+} 채널을 통한 Ca^{2+} 유입의 차등적인 양은 자가-학습 패러다임에서 시냅스 프레임워크 자체의 형성을 포함하여, 세포의 번역 및 합성 활동을 지시하는 후생 유전적 결정인자이다 (예시 2를 참조). 글루타메이트에 의해 매개되는 흥분성 자극을 통한 환경적 자극은 Ca^{2+} 유입의 차등적인 양으로 해석된다. 환경 자극은 수정에서 시작하여 (NMDAR 채널은 배우자 세포와 접합체에 존재한다) 개인의 수명 동안 계속되고 NMDAR 시냅스 프레임워크를 지시한다 (발달을 지시하는 다른 후생유전학적 방향 중에서, 이들은 또한 예시 2에서 볼 수 있는 바와 같이, 7개의 NMDAR 유전자의 전사를 지시한다). 자궁 내 배아 노출을 포함하여, 수정에서 시작되는 환경 자극에 (NMDAR로 조절되는 정확한 양의 Ca^{2+} 유입으로 지속적으로 변환되는) 대한 이러한 지속적인 노출은 지속적으로 세포 기능을 조절하고 동시에 NMDAR 프레임워크를 자동 조절한다. 똑같은 (동일한) 자극이라도 NMDAR 발현을 포함하여 시냅스 프레임워크에 대한 차등 Ca^{2+} 패턴의 조절 효과로 인해 차등 효과를 갖게 된다. (차등 효과는 일반적으로 종 내 개체의 광대한 변이에 의해 나타나는 생리학적 매개변수에 속한다: NMDAR 아형 및 그 조합에서의 가능한 변이가 많을수록, 주어진 유사한 NMDAR 프레임워크를 공유하는 종 내에서 더 많은 개별 변이가 가능하다.) 이 이온 채널 (NMDAR) 조절 코드는 (Ca^{2+} 유입 패턴) 환경과의 지속적인 상호 작용을 기반으로, (어떤 유전자가 활성화되는지 선택함으로서) 개체를 형성하면서 수정 때부터 유전자의 활성화를 명령한다. 이는 인간이 (또한 다른 종) 환경에 의해 형성될 뿐만 아니라, 환경과 함께 한 단위라는 (각 개인이 그 단위에 대해 작은 기여를 나타내긴 하지만) 오랜 가정을 뒷받침한다.

[0352] (1) 환경 자극 (시냅스 전 뉴런에 대한 자극으로 번역되어 시냅스 전 축삭 글루타메이트 방출을 초래하는), 및 (2) 시냅스 글루타메이트 프레임워크를 수용하는 (글리신의 존재하에서 글루타메이트에 의해 매개되고 다수의 PAM과 NAM 및 잠재적으로 다른 작용제에 의해 조절되는) 시냅스 후 (또한 시냅스 전, Baretta 및 Jones 1996) 사이의 연속적이고 지속적인 상호작용은 Ca^{2+} 유입의 차등 패턴을 조절한다. 동시에 (다시 말해서, 차례로), NMDAR의 동일한 프레임워크는 이러한 차등적인 Ca^{2+} 유입 패턴에 의해 조절되므로, Ca^{2+} 패턴은 현재 자극 [글루타메이트 + 매개체(작용제) + 조절제(PAM 및 NAM)] 뿐만 아니라 직전 자극을 포함한 과거 환경 자극에 기반으로 세포 활동을 정확하게 조절한다. 감정적 기억과 예측을 포함한 학습/기억은 (회상과 대조적으로 과거 경험을 기반으로 미래를 조작하는 학습/기억의 형태, 또한 과거 경험을 기반으로 하는 과거의 조작) Ca^{2+} 유입 패턴으로 변환된 환경 자극에 의해 정확하게 조각화된 구조적인 (시냅스) 신경 가소성의 형태이다. Ca^{2+} 유입의 이러한 동일한 패턴은 NMDAR 프레임워크를 지속적으로 형성함으로서 환경 입력의 효과를 (각 자극의 효과) 조절한다. 덱스트로메타돈은, 병리학적 과활성 NMDAR에서 Ca^{2+} 유입 패턴을 하향 조절함으로서 (예시 1,3), NMDAR 프레임워크의 장기간 변형, 예를 들어 MDD에 대한 치료제로 나타나는 (본 예시 3에 나타난 바와 같이) 신경 가소성 효과를

(시냅스 단백질 및 신경영양 인자의 유도) 포함하는 신경 가소성을 결정한다 (예시 2).

[0353] 시험관 내에서 (예시 1, 2, 5, 6) 또한 덱스트로메타돈으로 치료된 MDD 환자에서의 (예시 3) 본 발명자의 실험 결과를 기반으로, 본 발명자는 이제 Ca^{2+} 유입의 차등 패턴이 NMDAR 프레임워크에 의해 조절될 뿐만 아니라, 차례로 이러한 동일한 패턴이 시간이 지남에 따라 NMDAR 프레임워크를 조절하고 결정한다고 가정할 수 있다 [수정에서 사망까지, 개인의 일생 동안 발생하는 신경 가소성(LTP 및 LTD)]. 선택된 NMDAR (예시 1) 및 다운스트림 신경 가소성을 (예시 2) 통한 Ca^{2+} 유입에 대한 덱스트로메타돈의 이러한 조절 효과는 세포가 신경 가소성 기계를 (시냅스 단백질의 합성 및 조립, 신경영양 인자의 합성 및 방출) 재개하도록 허용함으로서, 또한 새로운 감정적 기억의 층을 형성하도록 허용하고, 이전의 병적 감정적 기억 및 그 효과를 중화하거나 역전시킴으로서, 잠재적으로 MDD를 치료할 수 있다 (예시 3).

[0354] 수면의 특정 단계에서 발생하는 생리적 LTD도 (가지치기) 또한 동일한 메카니즘으로 설명될 수 있다: 수면의 특정 단계에서 발생하는 Ca^{2+}의 차등 패턴은 NMDAR 발현에 의해 조절되고 NMDAR 발현을 조절한다. 덱스트로메타돈의 작용은 수면 중에도 치료가 될 수 있다.

[0355] NMDAR 종속적 LTP 및 LTD에 의해 설명되는, 조작된 기억을 [예측/기대 및 회상 동안 구성된 기억(학습, LTP)] 포함하여 인지, 운동, 정서적, 사회적 기억을 포함하는 기억 형성은 NMDAR에 의해 조절되는 Ca^{2+} 유입의 차등 패턴으로 시작된다. 생리학적 상황하에서 이러한 Ca^{2+} 유입의 차등 패턴은 자극-유발 (환경) 글루타메이트 시냅스 전 방출에 의해 결정되고, 시냅스 단백질 및 신경영양 인자 전사-합성과 조립-발현 (예를 들어, AMPAR 및 NMDAR) 및 방출을 (신경영양 인자) 초래한다. 이 생리적 기억 형성은 (LTP 및 LTD) 커넥톰을 (시냅스를 통한 뉴런의 배선 및 배선 해제) 형성하고 개별성개별성식의 기반이 된다 (이후를 참조).

[0356] 감정적 기억은 의식적일 수 있다: 현재 기분, 즉 주어진 순간의 기분은 기존 기억 (커넥톰) + 일반적으로 필요를 보존하는 종에 의해 지배되는 (위험 인식-스트레스; 음식과 성에 대한 생각) 신체 감각을 포함하여 뇌에 도달하는 현재 환경 자극에 (외부 및 내부) 의해 결정된다. 감정적 기억은 또한 잠재의식이거나 (프롬프팅으로 회복할 수 있는 기분) 무의식적일 수 있다 [구조화되지 않은 (미성숙한) 시냅스는 주어진 시간에 의식에 도달할 수 없지만, 진행 중인 (추가된 -LTP 또는 감산된 -LTD) 신경 가소성과 시냅스의 성숙에 따라 다른 시간에 나타날 수 있다]. 이러한 감정적 기억 구성물에 대한 기대와 기분 및 행동을 결정하는데 있어 그 중요성은 (Pontius, A. A., 과거에 대한 압도적인 기억: 프루스트는 외부 자극에 의한 변연계 점화를 묘사한다 - 문학 천재는 수수께끼 행동의 신경생물학적 패턴을 전조할 수 있다 (Overwhelming Remembrance of Things Past: Proust Portrays Limbic Kindling by External Stimulus—Literary Genius Can Presage Neurobiological Patterns of Puzzling Behavior). Psychological Reports, 73(2), 1993, pp.615-621)에 의해 잘 설명된다. 이 작업은 이제 병리학적 및 강장적 과활성 채널 아형에 대한 (예시 1, 3, 5) 덱스트로메타돈 및 특정한 개방 채널 차단제의 선택성 및/또는 엔돌핀 시스템의 NMDAR 채널 일부에 대한 선택 기공 차단제의 추가 선택성을 (예시 10) 포함하여, 본 발명자에 의해 제시된 개시에 비추어 재검토될 수 있다. MDD 및 관련 장애를 포함하여, 선택 신경정신 장애로 나타날 수 있는 기능장애 감정적 기억은 (교환 커넥톰을 나타내는 의식, 잠재의식 및 무의식) 본 개시내용의 관심 대상이다.

[0357] LTP, LTD 및 그에 따른 기억 형성에서의 NMDAR의 알려진 역할은 예시 1-11의 NMDAR에서 덱스트로메타돈의 개시된 작용에 의해 확인된다: 덱스트로메타돈 작용은 자극의 강도 및 빈도와 수신하는 NMDAR 프레임워크에 대해 (작용제 + 조절제의 영향을 포함하여) 상대적으로 선택적이고 차등적이고, 신경 가소성에 대한 Ca^{2+} 유입의 차등 패턴의 다운스트림 결과와 강장적 및 병리학적 과활성 NMDAR 기공 채널의 선택적 차단을 포함한다. 특히, 여기서 개시된 MDD 환자에서 인지 부작용이 없는 덱스트로메타돈의 개시된 치료 효과는 과도한 Ca^{2+} 유입으로 기능장애가 있는 (새로운 감정적 기억의 생산을 위해 기능할 수 없는: 시냅스 단백질 전사-합성 및 조립-막 발현 및 신경영양 인자 전사-합성 및 방출) 세포에 의해 발현되는 과활성 NMDAR에 대해 덱스트로메타돈에 의해 수행되는 선택적 재평형 작용에 (세포 내 과도한 Ca^{2+} 진입의 하향 조절) 대한 본 발명자의 가설을 확증한다. 과활성 NMDAR을 통한 과도한 Ca^{2+} 유입에 의해 기능장애를 일으키는 이러한 CNS 세포는 신경 회로의 일부이고 [동일한 환자의 초과 시간에서 생리학적 및 지속적으로 진화하는 회로 (진행 중인 자극 유도 LTP-LTD)] 덱스트로메타돈의 표적이며, MDD에 대한 효과, 및 특히 MDD 관련 장애에 대한 효과를 포함하여 다양한 신경정신 장애에 대한 잠재적 효과를 설명한다.

[0358] 임의의 이론에 구속되지 않고, 본 발명자는 MDD 환자에서 신속한 치료 효과에 대한 이유 중 하나가 예를 들어, BDNF와 같은 신경영양 인자에 의한 mPFC에서의 뉴런 활성화가 될 수 있다고 믿는다. MDD 환자의 신속한 효과에 대한 또 다른 가능한 설명은 mPFC로 투사되는 억제 개재뉴런의 긴장성 자극의 중단이다 (NMDAR 차단). 과활성 NMDAR이 시냅스 후 뉴런의 수상돌기에서 신경 가소성 기계를 중단시키지만, 이들은 또한 mPFC 뉴런으로 투사되는 억제성 개재뉴런에 도달하는 시냅스 후 뉴런의 축삭을 따라 탈분극 및 전기화학적 전달을 허용할 수 있다. 덱스트로메타돈은, Ca^{2+} 유입을 하향 조절함으로서, 강장적으로 과-자극된 뉴런에서 신경 가소성 기계의 재개를 허용할 뿐만 아니라 전기화학적 전달을 감소시키므로, 그에 의해 mPFC 뉴런으로 투사되는 억제성 개재뉴런을 잠재적으로 진정시킨다. 또한, NMDAR의 과활성화는 예를 들어, mPFC에서의 뉴런과 같이, 선택된 뉴런에 도달하는 과도한 억제 활성으로 GABAaR의 클러스터링을 유발할 수 있다. 일반적으로, 만성 스트레스 조건하에서 mPFC를 억제하는 개재뉴런의 활성화는 장기간 스트레스 동안 적극적인 의사 결정을 감소시킴으로서 진화론적 (종 보존적) 목적을 제공한다고 믿어진다. MDD에서, 억제성 개재뉴런의 만성적 과활성화는 대신에 덱스트로메타돈에 의해 잠재적으로 교정되는 병리학적 과정의 일부가 될 수 있다.

[0359] C. 덱스트로메타돈은 NMDAR과 신경 가소성을 조절한다

[0360] 상기의 관찰 및 실험 결과를 고려하여, 본 발명자는 건강 및 질병에서 감정이 (만족, 행복, 슬픔, 불안 등과 같은) 의식적 또는 잠재의식적이거나, 무의식적인 감정적 기억으로부터 (감정 회로의 뉴런 부분에서의 LTP 및 LTD) 비롯된다고 가정한다. 이러한 감정적 기억은 NMDAR을 통해 세포로 진입하는 글루타메이트 유발 Ca^{2+} 유입 패턴을 통하여 "학습"되고 구조적 LTP 및 LTD를 결정한다 (이들 세포는 신경 회로의 뉴런 일부를 포함한다). 이러한 회로는 NMDAR을 통한 Ca^{2+} 유입의 차등 패턴에 의해 조절되는 지속적인 신경 가소성을 통하여 수명 동안 진화한다. 학습된 감정은 (감정은 예를 들어 인지, 운동 및 사회적 기억 회로인 다른 학습된 신경 회로와 같은 학습된 회로이다) Ca^{2+} 유입의 자극-주도, NMDAR-조절, 차등 패턴을 통해 인코딩된다 (상기에 나타난 바와 같이, Ca^{2+} 유입의 이러한 차등 패턴은 또한 조절인자를 조절한다. 즉, 예시 2에 나타낸 바와 같이, NMDAR 서브유닛 및 신경 성장 인자의 생성을 유도함으로서 NMDAR 프레임워크를 조절한다). 빛, 소리 및 다른 자극과 같은 감각 기관을 통해 들어오는 자극을 포함하여 외부 환경으로부터의 거의 모든 자극은 NMDAR을 활성화하는 글루타메이트 방출로 변환되어 Ca^{2+} 유입의 차등 패턴을 유발한다; 다른 외부 환경 자극은 pH를 포함하여 개인의 혈류에 들어가거나, 대사 경로에 의해 형성된 분자가 될 수 있고, 또한 NMDAR 작용제 또는 PAM 및/또는 NAM으로 기능할 수 있다. 감정과 그 표현을 (정서 상태) 제어하는 학습된 (신경 가소성) 회로는 과도하게 자극된 NMDAR로 인해 손상될 수 있어, 세포와 그 회로의 기능 및 구조를 변경하는 과도한 Ca^{2+} 유입 패턴을 유발한다 (예를 들어, 과도한 Ca^{2+} 유입이 NMDAR 서브유닛 및 BDNF를 포함한 시냅스 단백질의 전사 및 생산 감소와 같은 신경 가소성의 감소를 유발한다).

[0361] 그리고, 이제 본 발명자는 선택 뉴런의 병리학적 과활성 (과도한 Ca^{2+} 유입) NMDAR 채널이 덱스트로메타돈에 의해 차단되고 Ca^{2+} 유입이 (내부 Ca^{2+} 전류) 하향 조절될 때 (예시 1에 나타난 바와 같이), 신경 가소성 기계가 [NMDAR 서브유닛 (예시 2) 및 BDNF와 같은 신경영양 인자를 포함하는 시냅스 단백질의 합성] 재개되고 MDD 표현형이 교정된다는 것을 (예시 3) 나타낸다.

[0362] NMDAR의 과자극 중단은 약리학적 NMDAR 차단 없이 발생할 수 있다. 예를 들면, 가벼운 우울증이나 불안의 경우, 스트레스를 유발하는 심리적 자극을 제거하면 그 자체로 시냅스 전 글루타메이트 방출이 갑자기 감소되고, "과도한" 글루타메이트 방출에서의 이러한 감소는 덱스트로메타돈의 NMDAR 채널 차단에 의해 수행되는 Ca^{2+} 유입에서의 감소와 유사한 신경 가소성에 대한 효과로 이전에 과도한 Ca^{2+} 유입을 하향 조절하게 된다. 결과적으로, 세포는 신경 가소성 활동을 재개하고, 새로운 채널이 형성되고, BDNF가 생성 및 방출되고, 또한 새로운 "건강한" 감정적 기억이 형성되어 이전의 "병리적" 감정적 기억을 중화한다. 이는 MDD 및 관련 신경정신 장애 (예를 들면, GAD) 환자의 자발적 회복 및 본 예시 3에 제시된 시험에서 (또한 다른 임상 시험에서) 일반적으로 나타나는 높은 위약 반응을 설명하고, 여기서 위약으로 치료받은 환자의 15%와 5%는 각각 7일과 14일에 관해를 달성하였다. 본 발명자의 2a상 시험에서 (임상 시험 결과에 혼란을 줄 수 있는 환자의 서브세트를 제외한) SAFER의 사용은 위약에 반응할 가능성이 더 높은 일부 환자를 제외할 수 있었지만, 모든 환자를 제외하지는 않았다.

[0363] 신경 가소성의 지속적인 후생적 재형성은 (기억 형성) 경험에 의해 결정되어 [다양한 수단을 통해 (감각 기관에

제한되지 않는) 개인에게 도달하는 환경 자극 (수정 시 시작되는)] 시냅스 전 글루타메이트 방출에 의해 매개되고, 신경 가소성을 조절하는 결과적인 Ca^{2+} 유입의 차등 패턴은 (시냅스 후 뉴런으로의 Ca^{2+} 유입의 차등 동역학) 수명에 걸쳐 끊임없이 변화하는 차등 NMDAR 프레임워크를 통해 신경 가소성에 의해 조절된다. NMDAR 프레임워크의 막 발현에서의 이러한 다년간의 변화는 NMDAR의 발달 전환을 포함하고 (Hansen 등, 2018), 모든 형태의 학습의 (인지, 운동, 감정, 및 사회적 기억/학습) 기반이 된다. 인지 (예를 들어, 언어 학습), 운동 (예를 들어, 걷기), 정서적 (예를 들어, 만족), 사회적 (예를 들어, 의사소통 도구로서의 비언어적 "모방"에서 시작되는) 기억은 더 많이 (강하게) 또는 더 적게 (약하게) 연결된 신경 회로 내에서, 구조적 및 기능적으로 더 강하거나 약한 시냅스로 나타난다. 이러한 회로는 더 강하거나 약할 수 있고 다소간 상호연결될 수 있다 (커넥톰의 개별성). 따라서, 제한되지 않지만, 감정적 기억을 포함하는 (감정 회로가 본 발명자의 실험 결과에서 더 밀접하게 고려되지만) 기억은 (개별성의 기반) 의식에서 잠재의식으로, 무의식으로 끊임없이 변화하고 있다 (평생 동안 지속적인 LTP 및 LTD에 의해 조절되는 개별성 및 의식 변화).

[0364] 글루타메이트 및/또는 PAM 또는 NAM을 통해, NMDAR에 의해 조절되는 Ca^{2+} 유입의 특정 차등 패턴을 결정하고 차례로 NMDAR 프레임워크를 조절하는 특정한 자극에 대한 노출은 구조적 및 기능적으로 시냅스를 지속적으로 재구성하게 된다 (예를 들면, 시냅스 단백질의 합성 및 막 발현, BDNF를 포함한 NGF의 합성 및 방출을 통해).

[0365] NMDAR을 통한 Ca^{2+} 유입의 차등 패턴은 궁극적으로 동일한 종의 개체 간의 차이점과 유사성을 결정하는 공유 코드이다 (동일한 종의 개체는 유사한 NMDAR 프레임워크를 가지고 있고, 동일한 사회의 개체는 유사한 행동의 모방을 포함한 문화적 자극을 포함하여 유사한 환경 자극에 노출된다). Ca^{2+} 유입의 차등 패턴은 이후 더 논의될 바와 같이, 개별성, 의식, 학습된 기억, 감정 등을 결정하고 설명하기 위한 후생 유전적 코드, 및 종 내에서 또한 종 사이에서의 우선적인 의사소통을 나타낸다:

[0366] (1) 개별성: NMDAR 유전자와 아형 및 이소형이 동일한 일란성 쌍둥이의 경우에도, 접합자가 두개의 개별 배아로 분할될 때 차별적 경험이 (환경적 영향에 대한 노출, 즉 후생 유전적 영향에 대한 노출) 달라지기 시작한다. 환경 영향에 (접합자 및 배아 외부의 모든 것) 대한 차등 노출은 NMDAR을 통한 Ca^{2+} 유입의 차등 패턴을 결정하고, 신경 가소성을 포함한 발달을 차등적으로 조절하고, 또한 일란성 쌍둥이의 CNS 개별성을 결정하게 된다 (구조적 CNS 차이는 인간에서 증명하기 어려울 수 있지만, 출생 시 일란성 쌍둥이는 서로 다른 지문을 가지고 있다는 것은 알려진 사실이고, 이는 접합체가 분리된 직후 차등적인 환경 노출이 (또한 후생 유전적 영향) 시작된다는 것을 시사한다). 돌연변이는 또한 배아 발달에 차등적으로 영향을 미치고 일란성 쌍둥이 간의 일부 차이점을 설명할 수 있다;

[0367] (2) 의식: 학습된 기억의 학습 및 회상, 회상 뿐만 아니라 학습된 기억을 기반으로 하는 능력, "추론", 조작, 투사 및 예측하는 능력;

[0368] (3) 학습된 기억: 이러한 기억은 인지, 운동, 감정적 (개인), 및 사회적 (집단) 회로를 포함한다;

[0369] (4) 개인 및 사회적 감정, 행동, 신념, 종교, 정치 및 문화 운동;

[0370] (5) 종 내에서의 우선적인 의사소통: 세포막에 발현된 유사한 NMDAR 프레임워크는 (유전적 및 후생적) 서로 접촉하여 사는 같은 종의 (예를 들어, 부족, 지역 및 지역 공동체, 국가) 개체 간에 인식가능하고 예측가능하게 되는 학습된 기억을 생성하는 유사한 환경 자극에 (후생적) 의해 생성된 유사한 Ca^{2+} 유입 패턴으로 해석된다.

[0371] (6) 다른 종 사이의 우선적인 의사소통: 친밀감에 의해 (예를 들어, 사람과 개) 촉진되는 유사한 환경 자극은 (후생적) 다른 종의 개체에 걸쳐 인식가능하고 예측가능하게 되는 학습된 기억을 생성하는 NMDAR (유전적 및 후생적) 전반에 걸친 Ca^{2+} 유입 패턴으로 해석된다.

[0372] 상기의 모든 것은 유전자 발현과 신경 가소성을 조절하는 Ca^{2+} 유입의 차등 패턴에 의해 결정되는 분자 수준에서의 학습 및 기억 형성의 예이다. 구조적 (시냅스/커넥톰) 및 기능적 (작동 중인 NMDAR 프레임워크) 신경 가소성은 (기억 형성) 개인의 신경계에 대한 외부 환경의 지속적인 실시간 효과이고 NMDAR 전반에 걸친 Ca^{2+} 유입의 차등 패턴에 의해 코딩된다. 동일한 패턴의 Ca^{2+} 유입은 NMDAR 프레임워크를 조절함으로서 스스로를 조절한다. Ca^{2+} 유입의 패턴은 후생유전학적 코드 역할을 한다. 그리고, CNS에서, 후생유전학적 코드는 NMDAR의 기공을 통

한 Ca^{2+} 유입의 차등 패턴으로 표현된다.

[0373] 마지막으로, 개인의 일생 동안 복잡하고 (그러나 분명하게 혼란스러운) 지속적인 뇌 활동은 환경 자극 (후생유전적 자극), 글루타메이트/글리신 (작용제, 매개체), 및 NMDAR을 관장하는 PAM-NAM을 (알로스테릭 조절제) 통해 유발된 Ca^{2+} 유입의 차등 패턴의 다운스트림 효과의 반향으로 (다수의 신경전달물질을 통한) 가장 잘 이해될 수 있다. AMPA 수용체를 통해 Na^{+} 유입에 의한 NMDAR의 전압 게이팅이 NMDAR 채널의 기공에서 Mg^{2+} 차단을 방출하는 데 중요하지만, 유전자 조절을 포함한 세포 활동은 Ca^{2+} 유입의 차등 패턴에 의해 제어된다. NMDAR 프레임워크는 Ca^{2+} 유입의 이러한 차등 패턴의 조절자이다 (또한 그에 의해 조절된다). Ca^{2+} 유입의 이러한 차등 패턴은 환경 자극을 미세하게 조정된 신경 가소성으로 (시냅스 전 및 시냅스 후) 해석하기 위한 공유 코드 역할을 하므로, 인간과 다른 종의 커넥톰을 (구조적 기억) 지속적으로 재형성하는 것을 담당한다.

[0374] 글루타메이트 방출로 해석되는 환경 자극은 Mg^{2+}에 의해 완전히 닫히지 않은 강장적 활성 NMDAR 채널에 먼저 영향을 미칠 가능성이 있고 (예를 들어, C 및 D에서), 저농도 글루타메이트에 의한 (AMPA 활성화를 통해 Mg^{2+} 차단을 방출할 수 없지만, 강장제 Ca^{2+} 유입을 생성/증진할 만큼 충분히 높은, 예를 들면 40-200 nM) 강장제 NMDAR 활성화의 이러한 생리학적 향상은 (매우 낮은 글루타메이트 농도로 본 발명자의 예시 1에서 볼 수 있는) LTP의 생성으로 (시냅스의 성숙: 시냅스 단백질 및 신경영양 인자 생산, 척추의 생산/향상으로) 신경 가소성 기계를 조절할 수 있다. 그러나, Ca^{2+} 유입이 과도해지면. 신경 가소성의 생리학적 메카니즘이 중단될 수 있다. 예시 1-10의 신규 데이터의 본 발명자에 의한 개시는 본 발명자에 의해 개시된 덱스트로메타돈 및 관련 화합물에 대한 잠재적인 치료, 예방 및 진단 용도로, 과활성화 NMDAR을 통한 과도한 Ca^{2+} 유입에 의해 유발, 유지 및 악화되는 다양한 질병 및 장애에 대한 덱스트로메타돈의 질병-조절 효과를 시사한다.

[0375] 따라서, 강장적 및 병리학적 과활성 NMDAR 채널을 선택적으로 표적화하는 용량에서 매우 내약성이 높은 약물인 덱스트로메타돈은 이제 건강과 질병에서의 뇌 기능을 이해하고 인간과 다른 종의 조직, 기관 및 회로에 통합된 선택 세포에서 병리학적 과활성 NMDAR 및 과도한 Ca^{2+} 유입으로 인해 발생되는 다양한 질병 및 장애를 예방, 치료 및 진단하기 위한 강력한 연구 및 임상 도구로서 본 발명자에 의해 개시되고 있다 (이후에 "덱스트로메타돈으로부터의 교훈" 섹션에서 논의될 바와 같이).

[0376] D. "질병"에서 덱스트로메타돈으로부터의 교훈: MDD 환자 2a상 연구

[0377] 2a상 연구는 MDD로 입원한 환자에게 매일 투여되는 덱스트로메타돈 25mg 및 50mg의 경구 용량을 조사하였다 (SAFER로 확인된 진단).

[0378] 1. 방법

[0379] 2a상, 다기관, RDBPC 3군 연구는 덱스트로메타돈의 안전성, 내약성, 및 PK를 평가하였고, MDD 환자에서 요법으로서 덱스트로메타돈의 (본 예시에서는 REL-1017이라고도 칭하여지는) 2회 경구 용량의 효능을 조사하였다. 환자는 18-65세의 성인으로 1(87.1%), 2(11.3%), 또는 3(1.6%)의 적절한 항우울제 치료에 반응이 없었다. 시험에 포함된 환자는 TRD에 대한 기준을 충족하는 환자를 포함하였다. 선택 기간 이후, 62명의 환자는 (x-age = 49.2세, x-HAMD 점수 = 25.3, x-MADRS 점수 = 34.0) 1:1:1 비율로 위약, 또는 덱스트로메타돈 25mg QDay, 또는 SSRI, SNRI나 부프로피온으로 진행 중인 치료와 함께 덱스트로메타돈 50mg QDay로 무작위 배정되었다 (특히, 62명의 환자는 플루옥세틴, 파록세틴, 세르트랄린, 에스시탈로프람, 시탈로프람, 부프로피온, 보티옥세틴, 벤라팍신 및 둘록세틴 중 하나 이상을 복용하고 있었다). 덱스트로메타돈 그룹의 환자는 75mg (25mg 그룹) 또는 100mg (50mg 그룹)의 1회 부하 용량을 받았다. 모든 환자는 입원 7일 치료를 마치고 2일 후 퇴원하여 14일차와 21일차에 후속 방문을 위해 돌아왔다. 잠재적 효능은 2일, 4일, 7일 및 14일차에 MADRS, SDQ 및 CGI 척도로 평가되었다. 안전 척도는 정신분열 증상에 대한 4-PSRS, 해리 증상에 대한 CADSS, 금단 징후 및 증상에 대한 COWS, 및 자살 성향에 대한 CSSRS를 포함하였다. 62명의 무작위 배정된 환자 모두는 ITT 집단 분석의 일부였다.

[0380] 이 연구에서 환자의 선별 및 투약의 개략도는 도 17에 도시된다. 환자의 성향, 인구통계학적 특성, 및 MDD 중증도는 아래 도표 30에 도시된 바와 같이, 팔 전체에 균일하게 분포되었다.

표 30

[0381] 도표 30

	위약	REL-1017 25mg	REL-1017 50mg	모든 피시험자
무작위 배정 피시험자	22	19	21	62
모든 방문 완료 (21일)	20	18	19	57
모든 용량을 받음	21	19	21	61
나이: 평균 년도(SD)	49.7 (11.1)	49.4 (12.4)	48.6 (10.9)	49.2 (11.3)
여성	11 (50%)	8 (42.1%)	9 (42.9%)	28 (45.2%)
피시험자 ITT	22	19	21	62
피시험자 PPP	21	19	21	61
선별 HAMD - 평균(SD)	25.6 (3.5)	25.1 (3.5)	25.0 (3.8)	25.3 (3.6)
기준선 MADRS - 평균(SD)	33.8 (4.0)	32.9 (6.0)	35.2 (3.9)	34.0 (4.7)

[0382] 또한, 2상 연구의 환자들은 이전의 항우울제 치료에 실패했었다. 각 그룹 당 과거 항우울제 치료 실패 횟수는 아래 도표 31에 도시된다.

표 31

[0383] 도표 31

	위약 (N=22)	REL-1017 25mg (N=19)	REL-1017 50mg (N=21)	모든 피시험자 (N=62)
ATRQ가 있는 % 피시험자	22 (100%)	19 (100%)	21 (100%)	62 (100%)
실패한 이전 치료의 전체 횟수				
1	21 (95.5%)	17 (89.5%)	16 (76.2%)	54 (87.1%)
2	1 (4.5%)	2 (10.5%)	4 (19.0%)	7 (11.3%)
3	0	0	1 (4.8%)	1 (1.6%)

[0384] 치료-응급 유해 사례의 도표는 (전체적인 요약 안전성 모집단) 도 18에 도시된다. 시스템 기관 등급 및 선호 용어 안전성 모집단에 의한 치료-응급 유해 사례의 도표는 도 19A 및 도 18B에 도시된다. 시스템 기관 등급 및 선호 용어 안전성 모집단에 의한 특별 관심 유해 사례(adverse events of special interest, AESI)는 도 20에 도시된다.

[0385] 2. 결과

[0386] 이 2a상 연구의 데이터는 투여된 모든 우울증 척도에 대해 매우 통계적으로 의미있는 p 값, 큰 효과 크기, 빠른 효능 (효과의 첫 번째 신호는 25mg 용량에 대해 2일차에 예기치 않게 시작되었고 4일차에 25mg 및 50mg의 두 용량 모두에 대해 통계적으로 의미가 있었다), 또한 1주 치료 과정의 갑작스러운 중단 이후 적어도 1주일 동안 유지되는 지속적인 효능으로 (오래 지속/유지되고 통계적으로 의미있고 임상적으로 의미있는 치료 효과 및 큰 효과 크기), 강력하게 긍정적인 효능 결과를 보여주었다.

[0387] 연구는 또한 1상 연구에서 관찰된 덱스트로메타돈의 유리한 안전성, 내약성 및 PK 프로파일을 확인하였다. 환자는 경증 및 중등도의 AE를 경험하였고, SAE는 없었으며, REL-1017 (덱스트로메타돈) 그룹 대 위약 그룹에서 관련 기관 그룹 AE의 유병률이 더 높지 않았다. 치료에 의해 유발된 정신분열 및 해리성 AE 또는 마약 효과나 금단 징후 및 증상의 증거는 없었다. ≥500 msec로 정의되거나 기준선보다 60msec 증가되는, 임상적으로 의미 있는 QTc 연장의 증거는 없었다. 덱스트로메타돈 25mg 및 50mg 그룹의 환자들은 MADRS, CGI-S 척도, CGI-I 척도, 및 SDQ를 포함한 모든 효능 측정에서 위약 그룹의 환자와 비교하여, 신속하고 (2일차부터 시작되는), 지속적이고 (마지막 효능 평가인 14일차까지), 또한 큰 효과 크기를 갖는 통계적으로 의미있는 개선을 경험하였다. MADRS의 개선은 25mg 그룹에서 2일차에 나타났고, 4일차에 두 덱스트로메타돈 용량 그룹 모두에서 통계적으로 의미있었으며, 7일차 및 14일차까지 (치료 중단 이후 7일차) P 값 < 0.03 및 효과 크기 0.7 내지 1.0이 지속되었다. CGI 및 SDQ 척도로부터 유사한 결과가 나타났다.

[0388] 이 연구 동안 임상의가 투여한 해리 상태 척도 점수의 도표는 도 21에 도시된다. 그리고, 도 22 및 도 23은 1일차에 용량 수준(25mg 또는 50mg)에 따른 덱스트로메타돈의 혈장 농도 (도 22) 및 두 용량 수준에 대한 덱스트로

메타돈의 최저 혈장 농도 수준을 (도 23) 도시한다. 이들 두 도면에 도시된 결과는 1상 연구 결과와 일치한다.

[0389] 또한, 50mg 용량과 비교하여 25mg 용량에서 더 나은 효능에 대한 징후가 있었다. 약물은 25mg 용량에서 위약 치료 환자와 비교가능한 부작용과, 위약 및 25mg 용량과 비교하여 50mg 용량에서 더 높은 부작용 발생률에 대한 징후와 함께 유효 용량에서 내약성이 우수했다. MDD로 진단된 후 SAFER에 의해 선별된 환자의 위약 반응은 특징적으로 나타나는 위약 반응 (일반적으로 MADRS에서 -9-12점) 보다 낮았다 (MADRS에서 -7.4점). 또한, 위약 효과와의 관계와 무관하게, 반응의 크기는 특징적으로 나타나는 것 (일반적으로 -12-14) 보다 더 컸다(-17.8). 도 24는 치료 그룹의 MADRS 점수가 4일차부터 14일차까지 위약에 비해 통계적으로 의미있는 차이를 달성했음을 나타낸다. 도 25는 리미터의 퍼센트를 나타낸다 - 기준선으로부터 MADRS < 50% 감소.

[0390] E. 안전성 및 내약성 결과

[0391] 연구 결과는 1상 SAD 및 MAD 연구에서 관찰된 유리한 내약성 및 안전성 프로파일을 확인한다. 이들은: (1) SAE 없이 - 경증 및 중등도 AE만; (2) 위약에 비해 치료군에서 특별히 관련된 기관 그룹 AE의 증가되지 않은 유병률; (3) 위약에 비해 치료 그룹에서 치료로 유도된 해리 증상의 증거가 없는 것; (4) 위약에 비해 치료 그룹에서 치료로 유도된 정신병적 증상의 증거가 없는 것; 또한 (5) 위약에 비해 치료 그룹에서 아편류 금단 증상의 증거가 없는 것을 포함한다.

[0392] F. 효능 결과

[0393] 덱스트로메타돈 25 및 50 mg은 모든 효능 측정에서 위약과 비교하여 통계적으로 의미있는 차이를 갖는 MDD 환자에서 신속한 개시 및 지속적인 항우울 효능을 나타낸다. 이들은: (1) 4일차에서 14일차까지 P 값 < 0.03 및 큰 효과 크기(0.7-1.0)를 갖는 MADRS에 대한 확실한 효능 결과; (2) 유사한 크기의 P 값 및 효과 크기로 MADRS 결과와 일치하는 CGI-S 및 CGI-I의 확실한 결과; (3) 4일차에서 7일차까지 중간 정도의 효과 크기 차이(d=0.4 및 0.5)를 갖고 14일차에 25mg (P = 0.0066; d = 0.9) 및 50mg (P=0.0014) 팔 모두에 대해 통계적으로 의미있는 차이와 큰 효과 크기를 갖는 SDQ 점수; (4) 신속한 개시와 오래 지속되는 항우울제 효능; 또한 (5) MDD에 대한 단일-요법으로서 덱스트로메타돈에 대한 지속적인 임상 개발 및 강력한 신호 효능을 지지하는 결과를 포함한다.

[0394] G. 논의 및 결론

[0395] REL-1017 (덱스트로메타돈) 25 및 50mg은 매우 유리한 안전성, 내약성, 및 PK 프로파일을 확인하였다. 예상치 않게, REL-1017 (덱스트로메타돈) 25 및 50mg에 의해 유도된 MDD 환자의 반응 및 관해는 신속하고, 큰 효과 크기로 통계적으로 의미있고, 임상적으로 의미있고, 또한 치료 중단 이후에도 지속되었다. 효과적인 NMDAR 점유를 초래하지 않는 덱스트로메타돈의 혈장 수준에서 14일차에 (마지막 치료 용량 이후 1주) 나타나는 MADRS, CGI-S 척도, CGI-I 척도, 및 SDQ의 다차원에 대한 지속적인 개선은 이전에 보여주지 않았던 질병-조절 효과 및 작용 메카니즘을 시사한다. 따라서, 이 연구의 발견은 덱스트로메타돈이 MDD 및 관련 장애에 대한 (예를 들면, 선택 세포에서 과도한 Ca^{2+} 유입으로 인한 다른 장애) 질병-조절 치료제를 나타내고 단순히 수용체 결합에 제한된 증상 치료제가 아님을 처음으로 시사한다. MDD에 대한 보조 치료로서 덱스트로메타돈의 질병-조절 효과에 더하여, 결과는 MDD 및 관련 장애에서 단독 요법으로서 덱스트로메타돈에 대한 유사한 효과를 강력하게 시사한다.

[0396] 본 출원 전반에 걸쳐 제시된 다른 증거와 함께 취해진, 작용 메카니즘 및 그 다운스트림 효과에 대한 (여기서 예시 1-11에서 본 발명자에 의해 개시된 바와 같이) 발견에 의해 확증된 이 2a상 연구의 예상치 못한 효능 결과는 다음을 제시한다:

[0397] (1) 적어도 환자의 서브세트에서 (MDD로 진단되고 SAFER 기준으로 추가 선별된), 장애는 감정 처리와 관련된 선택 회로의 선택된 뉴런 부분에서 과도한 Ca^{2+} 유입으로 인해 발생 및/또는 유지된다.

[0398] (2) 덱스트로메타돈의 임상 효과는 수용체 점유보다 오래 지속되므로, 시냅스 단백질 및 신경영양 인자의 합성, 신경 가소성의 재개, 및 신경 회로 회복을 포함한 신경 기능의 재개 때문일 가능성이 있다.

[0399] (3) 약 50-150ng/ml의 덱스트로메타돈 혈장 수준 또는 약 150-500nM의 농도를 초래하는 25mg 용량은 50mg 용량, 150-450ng/ml 또는 약 500-1300nM 농도로 획득된 혈장 수준으로 인한 치료 효과와 비교하여 잠재적으로 더 강력하고 더 신속한 개시를 갖는 치료 효과를 제공하게 된다. 이 신호는 평균적인 환자의 경우, 덱스트로메타돈의 낮은 농도가 과도한 Ca^{2+} 유입 및 MDD를 유발하는 병리학적 과활성 NMDAR 채널을 차단하기에 충분하고, 대부분의 MDD 환자에서 치료 효과의 달성을 위해 25mg 이상의 일일 경구 용량이 필요하지 않을 수 있음을 시사한다.

[0400] (4) 본 발명자는 2a상 연구 데이터의 추가 하위 분석을 실행하였다. 하위 분석은 BMI, 용량, 반응 (아래의 도표 32), 및 혈장 수준과 상관관계가 있었다. 흥미롭게, CDC에서 BMI에 따라 정상 또는 과체중으로 정의된 환자는 덱스트로메타돈 25mg에 매우 잘 반응하였지만, 비만으로 정의된 환자는 (BMI 30 이상) 적절하게 반응하지 않았다. 그러나, 25mg 및 50mg 투여량 그룹 모두에서, 예기치 않게, 혈장 수준은 BMI에 따라 변하지 않았다. 덱스트로메타돈 50mg을 더 많이 투여한 정상 및 과체중 환자는 25mg을 투여한 동일한 BMI를 가진 환자보다 덜 적절하게 반응하였다. 또한, 50mg을 투여한 비만 환자는 25mg을 투여한 비만 환자보다 훨씬 더 나은 반응을 보였다. 그러나, 상기에 언급한 바와 같이, 50mg 용량에서도 혈장 수준은 BMI에 따라 변하지 않았다. 아래의 도표 32-34는 임상 결과 및 혈장 수준에 대한 BMI의 영향을 설명한다.

표 32

[0401] 도표 32: CDC BMI 정의: 정상(NL 18.5-24.9), 과체중(OW 25-29.9), 비만(OB 30 이상); DM ng/ml = 덱스트로메타돈 혈장 수준

25mg	BMI	MADRS CFB 7일차	DM ng/ml 7/14일차	MADRS CFB 14일차
N=4	NL	21.75	77/5	15.6
N=12	OW	16.91	115/14	17.8
N=3	OB	8.6	113/14	7.6
50mg	BMI	CFB 7일차	ng/ml 7/14일차	CFB 14일차
N=6	NL	19.5	205/22	24.75
N=7	OW	15.3	120/7	12
N=8	PB	15.7	194/18	21.1

표 33

[0402] 도표 33: 모든 환자의 중앙 BMI 28.6

25mg	BMI	MADRS CFB 7일차	DM ng/ml 7/14일차	MADRS CFB 14일차
N=12	중앙값 이하	19.6	113/15	17.6
N=7	중앙값 이상	13.3	101/9.4	13.4
50mg	BMI	CFB 7일차	ng/ml 7/14일차	CFB 14일차
N=10	중앙값 이하	16.6	209/17	15.4
N=11	중앙값 이상	16.7	200/22	20.8

표 34

[0403] 도표 34

7일차 (25mg) 중앙값 이하 BMI: 위약 대 25mg*(p 값=0.0464) 중앙값 이상 BMI: 위약 대 25mg NS(p 값=0.5234)
14일차 (25mg) 중앙값 이하 BMI: 위약 대 25mg*(p 값=0.0460) 중앙값 이상 BMI: 위약 대 25mg NS(p 값=0.3786)
7일차 (50mg) 중앙값 이하 BMI: 위약 대 50mg NS(p 값=0.1171) 중앙값 이상 BMI: 위약 대 50mg NS(p 값=0.1357)
14일차 (50mg) 중앙값 이하 BMI: 위약 대 50mg NS(p 값=0.1675) 중앙값 이상 BMI: 위약 대 50mg*(p 값=0.0143)

[0404] 본 발명자는 수십 년 동안 덱스트로메타돈 및 그 이소형에 대한 연구를 실행하였다. 특히, 발명자 중 한 명인 Charles Inturrisi는 앞서 메타돈 및 그 이소형의 약리학에서 혈장 단백질의 역할을 정의하였고 [Inturrisi CE, Colburn WA, Kaiko RF, Houde RW, Foley KM. 만성 통증 환자에서 메타돈의 약동학 및 약력학 (Pharmacokinetics and pharmacodynamics of methadone in patients with chronic pain). Clin Pharmacol

Ther. 1987;41(4):392-401], 매크로바이오틱 식이요법에 비해 서양 식이요법을 받는 환자에서 메타돈 클리어런스가 더 빠르다는 메타돈 대산에 대한 식이요법의 영향을 연구하였다 [Wissel PS, Denke M, Inturrisi CE. 인간의 약물 대사 및 혈장 지질에 대한 매크로바이오틱 식이와 서양 식이의 효과 비교 (A comparison of the effects of a macrobiotic diet and a Western diet on drug metabolism and plasma lipids in man). Eur J Clin Pharmacol. 1987;33(4):403-407].

[0405] 메타돈을 포함한 특정 약물의 CNS 침투는 알파-1-당단백질(alfa-1-glycoprotein, AAG) 수준에 의해 결정된다 [Jolliet-Riant P, Boukef MF, Duche JC, Simon N, Tillement JP. 인간 알파 1-산 당단백질의 유전적 변이체 A는 혈액이 결합하는 약물의 뇌 전달을 제한한다 (The genetic variant A of human alpha 1-acid glycoprotein limits the blood to brain transfer of drugs it binds). Life Sci. 1998;62(14):PL219-PL226]. 라세믹 메타돈과 그 이소형은 주로 AAG, 특히 오로소뮤코이드2(orosomucoid2) A 변이체에 결합된다 [Eap CB, Cuendet C, Baumann P. 건강한 지원자의 혈장에서 단백질에 대한 d-메타돈, l-메타돈 및 dl-메타돈의 결합: 알파 1-산 당단백질 변이체의 역할 (Binding of d-methadone, l-methadone, and dl-methadone to proteins in plasma of healthy volunteers: role of the variants of alpha 1-acid glycoprotein). Clin Pharmacol Ther. 1990 Mar;47(3):338-46; Herve F, Duche JC, d'Athis P, Marche C, Barre J, Tillement JP, 인간 알파 1-산 당단백질의 두 가지 주요 유전적 변이체에 대한 디소피라미드, 메타돈, 디피리다몰, 클로르프로마진, 리그노카인 및 프로게스테론의 결합: 변이체 간의 약물 결합 차이 및 알파 1-산 당단백질에 두개의 개별 약물-결합 부위 존재에 대한 증거 (Binding of disopyramide, methadone, dipyridamole, chlorpromazine, lignocaine and progesterone to the two main genetic variants of human alpha 1-acid glycoprotein: evidence for drug-binding differences between the variants and for the presence of two separate drug-binding sites on alpha 1-acid glycoprotein). Pharmacogenetics. 1996;6(5):403-415]. AAG 수준은 임상 전 실험 설정에서 메타돈의 효과에 영향을 미친다 [Garrido MJ, Jiminez R, Gomez E, Calvo R. 자발적 금단증상이 있는 쥐에서 메타돈의 진통 효과에 대한 혈장-단백질 결합의 영향 (Influence of plasma-protein binding on analgesic effect of methadone in rats with spontaneous withdrawal). J Pharm Pharmacol. 1996;48(3):281-284]. 금단증상이 있는 환자에서 AAG는 증가하고 유리 메타돈은 감소된다 [Garrido MJ, Aguirre C, Troconiz IF, Marot M, Valle M, Zamacona MK, Calvo R. 금욕 증후군이 있는 헤로인 중독자에서 알파 1-산 당단백질(AAG)과 메타돈의 혈청 단백질 결합 (Alpha 1-acid glycoprotein (AAG) and serum protein binding of methadone in heroin addicts with abstinence syndrome). Int J Clin Pharmacol Ther. 2000 Jan;38(1):35-40]. 마지막으로, 알파-1-당단백질의 수준은 비만에서 증가된다. 즉, 알파-1-당단백질의 수준은 식단에 영향을 받고 [Benedek IH, Blouin RA, McNamara PJ. 중등도 비만 남성 피시험자에서 혈청 단백질 결합 및 증가된 알파 1-산 당단백질의 역할 (Serum protein binding and the role of increased alpha 1-acid glycoprotein in moderately obese male subjects). Br J Clin Pharmacol. 1984;18(6):941-946], 식이요법은 메타돈 PK에 영향을 미친다 (Wissel 등., 1987). 또한, 메타돈의 유리 분획은 상승된 메타돈 농도에 의해, 또는 AAG에도 결합하는 다른 약물에 의한 대체를 통해 크게 영향을 받지 않는다 [Abramson FP. 메타돈 혈장 단백질 결합: 암의 변경 및 알파 1-산 당단백질로부터의 변위 (Methadone plasma protein binding: alterations in cancer and displacement from alpha 1-acid glycoprotein). Clin Pharmacol Ther. 1982;32(5):652-658].

[0406] 상기의 (3) 및 (4) 포인트, 본 출원 전반에 걸쳐 개시된 다른 데이터, 및 메타돈과 그 이소형, 특히 덱스트로메타돈에 대한 본 발명가의 공유된 지식을 기반으로, 본 발명자는 본 발명자의 2a상 연구 및 2a상 데이터의 후속 심층 분석 이전에 알려지지 않은 사실인, 덱스트로메타돈에 대한 치료 창이 안전성 창 보다 더 좁다는 것을 개시한다. 또한, 이 치료 창은 총 혈장 수준을 측정하는 것보다 (이 확장되지 않은 발견까지 수행된 것과 같이), 유리 덱스트로메타돈 수준 및/또는 AAG 및/또는 그 변이체의 측정에 의해 더 잘 정의될 수 있다. 또한, MDD 및 관련 장애와 가능하게 다른 신경정신 질환에 대한 덱스트로메타돈의 치료 없는 수준은 (총 혈장 수준의 약 10%) 5-30ng/ml 또는 약 15-100nM 범위 내에서 정의된다. 부가적으로, 본 발명자는 MDD와 함께 덱스트로메타돈의 잠재적인 치료 효과가 그의 대사산물, 특히 EDDP에 기인할 수 있음을 개시한다. 본 발명자는 (여기서의 데이터를 기반으로) 추가 연구가 유리 덱스트로메타돈 수준 및 EDDP 수준과 치료 반응 사이의 직접적인 상관관계를 발견하고 AAG 수준과 치료 반응 사이의 역 상관관계를 발견할 것이라 믿는다.

[0407] 발명자의 작업에서 - 2상 연구의 결과 - 획득된 결론의 상기 포인트 (1)-(4)의 목록에 이어서, 여기서 제시된 다른 예시 및 증거는 또한 다음을 제시한다:

[0408] (5) 선택 회로의 선택된 뉴런 일부에서 과도한 Ca^{2+} 유입을 차단하는 약물에 반응할 가능성이 낮은 MDD 진단을 받은 환자가 있을 수 있다. 본 발명자의 2상 시험에서 낮은 위약 반응과 강력한 효능 결과를 기반으로, SAFER

스크리닝 도구는 과도한 Ca^{2+} 유입을 선택적으로 하향 조절하는, 덱스트로메타돈과 같은, 약물에 반응할 가능성이 적은 MDD 환자를 선택하는데 도움이 될 수 있다. SAFER 스크리닝의 이러한 효과는 연구자 및 임상의가 감정 처리 회로(감정 기억 회로)의 일부인 뉴런으로의 과도한 Ca^{2+} 유입에 의해 유발 및/또는 유지되는 장애가 있는 MDD의 서브세트를 더 잘 정의하는데 도움이 될 수 있다.

[0409] (6) 덱스트로메타돈으로 치료받은 피시험자와 환자의 결과는 연구자 및 의사가 신경정신 장애의 서브세트 뿐만 아니라, 글루타메이트 및/또는 PAM 및/또는 작용제에 의한 NMDAR의 과활성화에 의해 결정된 선택 뉴런 또는 다른 세포 집단에서 과도한 Ca^{2+} 유입에 의해 유발, 유지 또는 악화되는 대사 장애 (예를 들면, 당뇨병, NAFLD-NASH, 골다공증), 심혈관 (예를 들면, 협심증, CHF, HTN), 면역, 염증, 감염, 종양, 이과 및 신장 장애의 서브세트를 정의하는데도 도움이 될 수 있다.

[0410] (7) 유효 용량에서 부작용이 없는 것 외에도, 병리학적 과활성 NMDAR에 대한 덱스트로메타돈의 선택성은 또한 2a상 연구에서 나타난 금단 증상이 (징후 및 증상) 없는 것으로 의해 시사된다. 아편유사제, 벤조디아제핀, 도파민성 약물 또는 항도파민성 약물 또는 SSRI와 같은 수용체 또는 수용체 경로에 직접 작용하여 임상 효과를 발휘하는 약물은 [Henssler J, Heinz A, Brandt L, Bschor T. 항우울제 금단 현상 및 반동 현상 (Antidepressant Withdrawal and Rebound Phenomena). Dtsch Arztebl Int. 2019;116(20):355-361] 일반적으로 갑작스러운 중단 시 임상적으로 의미있는 금단 징후 및 증상을 초래한다.

[0411] NMDAR이 척추동물 간에 공유된다는 사실은 [Teng H, Cai W, Zhou L, Zhang J, Liu Q, Wang Y, 등. (2010) 척추동물 NMDA 수용체 서브유닛 2 유전자의 진화 모드 및 기능적 발산 (Evolutionary Mode and Functional Divergence of Vertebrate NMDA Receptor Subunit 2 Genes). PLoS ONE 5(10)] 또한 NMDAR 과활성화에 의해 유발, 악화 또는 유지되는 다양한 수의과 질환 및 장애의 치료를 위한 덱스트로메타돈의 잠재적인 치료 용도를 제시한다.

[0412] 또한, 본 발명자의 연구는 덱스트로메타돈이 MDD 및 TRD를 포함하는 신경정신 질환 및 장애에서, 알츠하이머병을 포함한 치매와 같은 신경 퇴행성 질환에서, 자폐 스펙트럼 장애와 같은 파킨슨병 및 신경발달 질환에서, 또한 정신분열증 등과 같은 다른 신경정신 질환 및 장애에서 비정상적인 염증성 바이오마커를 잠재적으로 조절할 수 있음을 보여주는 시험관내 결과를 개시한다. 덱스트로메타돈의 이러한 잠재적인 항염증 효과는 잠재적으로 덱스트로메타돈에 의한 NMDAR 차단 때문이고 (신경교 면역 세포를 포함한 면역 세포에서 발현되는 NMDAR의 잠재적 NMDAR 차단을 시사하는), 또한 다양한 신경정신병, 대사, 심혈관 장애, 염증, 면역 장애, 및 신생물 장애에 대한 효능을 설명하는데 도움이 될 수 있다. 비경쟁적인 NMDAR 채널 차단제로서 덱스트로메타돈의 알려진 작용 메카니즘을 고려하여, 덱스트로메타돈의 이러한 항염증 효과는 면역을 조절하는 세포에서 과도한 Ca^{2+} 유입을 하향 조절하는 효과일 수 있다.

[0413] 본 발명자는 MDD를 앓고 있고 덱스트로메타돈으로 치료받은 환자에서 마커의 임상 측정 세트로 예시 11에서 상세히 설명된 항염증 시험관내 작용을 확인하였다 (또한 이후의 예시 7도 참조). 본 발명자는 염증성 마커에 대한 이러한 효과가 신경교 세포를 포함한 면역 세포 및 선택 뉴런의 세포막에서 발현되는 NMDAR의 덱스트로메타돈에 의한 조절에 의해 유발되는 것으로 가정한다. 덱스트로메타돈으로 치료받는 신경정신 장애 환자에서의 염증 마커의 조절은 다른 유형의 기억에 (인지, 감정, 운동 기억) 대해 뉴런에서 보이는 효과를 반영하고 BDNF 및 시냅스 단백질의 증가에 의해 매개되는 면역 세포 효과에 (면역 기억의 조절) 대한 덱스트로메타돈 효과로 인해 발생할 수 있다. 덱스트로메타돈이 면역 세포의 기능을 (예를 들면, 면역학적 기억 및 염증 반응) 개선시킬 수 있는 경우, 이는 특히 염증성 장애, 자가면역 장애, 및 종양학적 장애를 포함하는 조절장애 면역계에 의해 영향을 받는 질병 및 장애에 대해 적절한 용량으로 치료적일 수 있다.

[0414] MDD 환자의 보조 치료로서 덱스트로메타돈에 대해 본 예시 3에 제시된 결과에 부가하여, 본 발명자는 또한 MDD 환자에서 덱스트로메타돈 단일요법을 개시한다. 덱스트로메타돈의 효과는 MDD와 동시 항우울제 치료를 받은 환자에서 매우 강력하였으므로, MDD와 연관된 CNS 이상 뿐만 아니라 MDD 치료와 잠재적으로 연관된 CNS 이상에 대해서도 덱스트로메타돈의 잠재적인 치료 작용을 시사한다 (본 예시 3에 나타난 바와 같이). 다시 말하면, 병리학적 과활성 NMDAR을 가진 선택 뉴런에서 과도한 Ca^{2+} 유입에 대해 덱스트로메타돈에 의해 수행되는 하향조절은 동시 신경약리학적 치료의 유무에 관계없이 일어날 가능성이 높다.

[0415] 본 발명자는 과도한 Ca^{2+} 유입에 대한 덱스트로메타돈의 선택적 조절 작용이 CNS 신경전달물질 경로를 잠재적으로 변경할 수 있는 치료를 아직 받지 않은 환자에게 특히 유용할 수 있다고 가정한다. 또한, 본 발명자는 덱스

트로메타돈과 행동 심리치료가 성공적으로 조합될 수 있음을 개시한다.

[0416] 앞서 개시된 바와 같이, 덱스트로메타돈은 남용 가능성에 대한 우려와 QTc 연장 및 부정맥에 대한 우려 때문에 잠재적으로 안전하고 효과적인 약물로 간주되지 않았다. 본 예시 3에서, 본 발명자는 이제 이러한 우려에 대응하는 추가 데이터를 제공한다. 특히, 예시 3 데이터는 MK-801, PCP, 및 케타민과 같은 일부 NMDAR 채널 차단제의 전형적인 인지 및 호흡 기능에 대한 아편유사제 효과와 (마약 효과) 해리 및/또는 환각 효과가 없음을 나타낸다. 또한, 갑작스러운 중단 시 아편유사제 금단에 대한 임상적으로 의미있는 징후 및 증상이 (COWS로 측정된) 없었다. 예시 3의 데이터는 또한 전반적인 심장 안전성과 덱스트로메타돈으로부터 임상적으로 의미있는 QTc 연장이 없음을 확인시켜 주었다.

[0417] 이후의 예시 6 ("on" 및 "off" 속도 및 "트래핑"을 설정하기 위한 전기생리학적 테스트) 및 예시 3은 (치료 용량에서 마약성 부작용의 결여에 부가하여 정신분열 및 환각 부작용의 결여) 선택된 과활성 NMDAR 채널의 막내 MK-801 부위에서 덱스트로메타돈이 제공하는 비경쟁적 차단이 생리적 뇌 기능에 필요한 생리학적 LTP 세포 활동을 (예를 들면, 시냅스 단백질의 생산 및 조립과 BDNF의 생산 및 방출) 재개하도록 세포에 허용함을 제시한다.

[0418] 본 발명자의 임상 및 실험 데이터의 본 개시는 MDD, 관련 장애, 및 다른 장애에 대한 새로운 병태생리학적 이해를 강력하게 시사한다. 이 새로운 병태생리학적 이해는 치료, 예방, 및 진단 전략에 - 심지어 새로운 치료제 개발에 - 깊고 즉각적인 영향을 미칠 가능성이 있다. 치료 용량에서, 생리학적으로 활성인 NMDAR을 방해하지 않고, 과활성화된 이온 채널을 (예를 들면, NMDAR) 선택적으로 표적화함으로서, 정신분열학적 부작용의 결여 및 매우 우수한 내약성 프로파일, 신속하고 강력하며 지속적인 효능, 및 예시 1-11에 요약된 작용 메카니즘에 의해 강조되는 바와 같이, 덱스트로메타돈은 잠재적으로 신경정신병 및 다른 장애를 발생, 유발, 유지 및/또는 악화시키는 뉴런 및 회로에 대한 기능을 복원시킨다.

[0419] 유사한 작용 메카니즘이 (NMDAR 차단) 최근 FDA에서 TRD에 대해 승인받은 에스케타민에 대해 개시되었다. 그러나, 에스케타민과 케타민은 고친화도 비경쟁 채널 차단제의 전형이고 경쟁 NMDAR 채널 차단제에서도 볼 수 있는 강렬한 정신분열 증상을 (해리 효과) 유발하기 때문에, 에스케타민에 (또한 케타민) 의해 제공되는 차단은 MDD/TRD 치료에 효과적이지만, 과활성화된 NMDAR에 대해 선택적인 것으로 나타나지 않고 (또는 선택적인 경우, 차단은 예시 6에 개시된 바와 같이, 실질적으로 유용한 "on"/"off" 및/또는 관련 "트래핑" 특징을 갖지 못한다), 이는 생리학적 NMDAR 활성과 케타민 및 에스케타민에 의한 간섭을 시사한다.

[0420] NMDAR에서 덱스트로메타돈의 고유한 작용 [예를 들면, GluN1-GluN2C 아형을 선호하는 다른 NMDAR 아형 A-D에 대한 보다 균일한 효과 (예시 1)], 채널 기공에서의 특정한 "on"-"off" 동역학 및 "트래핑" 특징과 생리학적 양의 Mg^{2+} 존재하에서 GluN1-GluN2C 아형에 대한 선호도 (예시 6), 또는 다른 수용체에 대한 친화도는 (예시 10) 선택된 CNS 회로에서 병리학적 과활성 NMDAR 및 다른 수용체를 선택적으로 표적화하고 차단하는데 "적절"할 수 있고, 중요하게, 그 특성은 생리적 활동 동안 (예를 들면, 위상 글루타메이트성 전달) NMDAR 채널 차단을 해제하는데 "적절"할 수 있다.

[0421] 행동 심리 치료와 덱스트로메타돈의 결합은 신경정신 질환 및 장애 치료에 매우 효과적인 전략이 될 수 있다: 덱스트로메타은 등급별 선택적 차단을 통해, 심리치료로 유도된 "건강한" 신경 가소성이 세포에서 발생하도록 허용하고, 이는 덱스트로메타돈으로 치료하기 전에 심리치료의 긍정적인 자극을 포함하여 자극에 불응성인 회로 (MDD의 경우 감정적 기억 회로) 및 병리학적 과활성 NMDAR 채널을 나타냈고, 그렇지 않으면 치료적 신경 가소성 효과를 초래할 수 있었다. 다시 말하면, 병리학적 과활성 채널을 가진 뉴런에 의해 손상된 정서적 기억 회로는 심리치료에 불응성이다 [또한, MDD의 경우와 같이, 스트레스 해소 (즉, 유리한) 삶의 경험에 불응성일 수 있다]; 한편, 덱스트로메타돈에 의해 (과도한 Ca^{2+} 유입의 차단으로) 차단된 이전의 과활성 NMDAR을 표시하는 세포를 갖는 동일한 회로는 심리치료에 의해 유도된 "건강한" 신경 가소성(LTP)을 위한 비옥한 지형을 (시냅스 단백질 및 BDNF의 생성) 제공할 수 있다.

[0422] 세포막에서 (NMDAR 프레임워크의 일부) NMDAR 아형 2A-D의 차등적 세포 발현은 시냅스 전 세포로부터의 경험에 의한 글루타메이트 방출이 (PAM 또는 다른 작용제의 작용 유무에 관계없이) Ca^{2+}의 특정한 패턴의 유입을 결정하고, 이어서 다른 신경전달물질을 통한 반향 효과를 포함하여, 시냅스 활성 및 강도를 조절하는 (학습 및 기억 형성을 위한 LTP 및 LTD를 기반으로) 단백질 조립 및 단백질 합성과 전사에 (mRNA의 유도) 대한 다운스트림 효과를 제공하게 되는 방법을 설명한다. 이러한 모든 효과는 궁극적으로 개인의 수명 동안 지속적인 커넥톰 진화/퇴화(재형성)를 결정한다. 본 발명자의 임상 전 시험관내 및 생체내 데이터와 임상 데이터를 기반으로, NMDAR은

Ca^{2+} 유입의 차등 패턴을 조절하고 그에 의해 조절된다.

[0423] 커넥톰의 지속적인 재형성에 필수적인 뉴런 간의 통신은 시냅스 전 작용 (흥분된 시냅스 전 뉴런에 의한 경험-기반 시냅스 전 글루타메이트 방출 - 내인성 또는 외인성 PAM, 예를 들어 폴리아민, 겐타마이신, 또는 퀴놀린산과 같은 작용제에 의한 NMDAR 조절을 포함하는) 및 시냅스 후 작용에 의해 결정된다: 차등적으로 발현된 NMDAR 아형의 NMDAR 채널 개방은 CaMKII 매개 효과를 포함한 NMDAR 프레임워크의 효과를 포함하여, 신경 가소성 효과를 포함하는 다운스트림 효과와 함께 Ca^{2+} 유입의 차등 패턴을 초래하게 된다.

[0424] 따라서, 시냅스 전 세포로부터의 글루타메이트 방출은 차등 시냅스 후 NMDAR 프레임워크에 (예를 들면, NR1-2A-D, NR1-3A-B, 및 그들의 잠재적인 삼중-이종 변형) 의존하는 일정 시간 동안 엄격하게 조절된 Ca^{2+} 유입을 초래하게 된다. (1) 비활성화 동역학 (GuN2D가 가장 느리고 - 2D 수용체가 활성화될 때 칼슘 유입에 더 많은 시간이 허용되고 - GluN2A는 가장 빠르고 - 이러한 채널이 글루타메이트에 의해 활성화될 때 칼슘 유입에 더 짧은 시간이 허용되는) 및 (2) 4개의 모든 GluN2 서브유닛에 걸친 전압-의존적 Mg^{2+} 차단의 강도에는 [2D와 2C는 Mg^{2+} 차단이 가장 강하지 않으므로, 아주 약간의 탈분극에 의해 개방이 유발될 수 있거나, 또는 막 탈분극 부재하에서 자발적으로 발생할 수 있고 시냅스 틈에서 낮은 주변 농도의 작용제에 (예를 들면, 글루타메이트 또는 퀴놀린산) 의해 유발될 수 있다] 아형-종속적 차이점이 있다. 다른 아형은 NR1 서브유닛의 스플라이스 변이체 (이소형)를 포함하는 아형 또는 삼중-이성질체 (예를 들면, NR1-NR2A-NR2B) 및/또는 NR3A-B 서브유닛을 포함하는 아형을 포함하여, PAM, Mg^{2+} 차단, 및 Ca^{2+} 투과성에 대한 내성이 변한다.

[0425] 덱스트로메타돈은, 병리학적 과활성 NMDAR 채널을 선택적으로 상호작용하고 조절함으로서, 그 방식으로 생리학적 세포 활동의 재개를 허용한다 [덱스트로메타돈의 "on" 속도는 채널이 병리학적으로 과활성일 때만 채널 차단을 허용하고, "off" 속도는 (또한 수용체 상호작용 "트래핑" 특징) 덱스트로메타돈의 분출 (MG^{2+}의 분출과 유사하게) 및 생리학적 조건, 예를 들어 환경 자극하에서 세포 이온 전류와 관련 세포 활동의 재개를 허용한다].

[0426] 고유한 차등 수용체 아형 차단 특징과 (예시 1) 적절한 "on"/"off" 및 "트래핑" 동역학 (예시 6), PAM 및 작용제의 유무에 관계없은 작용 (예시 5), 시냅스 단백질 유도, 조립 및 방출에 대한 효과 (예시 2), 또한 과활성화된 병리학적 과활성 NMDAR에 대한 선택성과 (예시 3), 그에 따른 과도한 Ca^{2+} 유입의 선택적 하향조절을 포함하는 매우 내약성이 높은 NMDAR 채널 차단제인 덱스트로메타돈은 이제 (여기서 개시된 본 발명가의 작업으로 인해) 환자 치료를 위한, 건강한 피시험자의 연구 도구로 (기억 생리학) 사용하기 위한, NMDAR 과활성과 관련된 다양한 장애로 고통받는 환자의 예방, 치료 및 진단을 위한 "동급 최고"로 (비경쟁적인 NMDAR 차단제의 새로운 신흥 부류) 그 자체를 드러내고 있다.

[0427] 덱스트로메타돈은 Ca^{2+} 유입의 엄격하게 조절되는 패턴의 (시냅스 전 세포의 차등 자극 및 시냅스 후 세포에 대한 NMDAR 2A-D의 차등 세포 발현에 의해 조절되는) 역할에 대한 이해의 진전을 자극할 가능성이 있다. Ca^{2+} 유입의 이러한 패턴은 커넥톰이 지속적으로 그 자체 재형성하게 (시냅스, LTP 및 LTD의 진화 및 퇴화) 허용하는 공유된 (종 사이에서) 코드를 나타낼 수 있다. 시냅스의 강화 및 형성은 사건 및 대인 관계에 대한 정서적 참여, 심지어 종교 및 정치 운동에 대한 참여를 포함하여 감정의 학습 및 사회적 상호작용의 학습을 포함하는 기억 및 학습의 기반이 되므로, 자아-동조적/사회적 (“정신적으로 건강한”) 상태에서 자아-긴장적/사회적 긴장 (“정신적으로 건강에 해로운”) 상태에 이르는 행동과 활동 및 기분을 파괴적이고 병적인 행동과 활동 및 기분, 개인적 및 사회적 고통의 원인이 되게 초래한다. 따라서, 글루타메이트에 의해 유발되는 Ca^{2+} 진입 패턴은 시냅스 전 방출되는 글루타메이트의 양에 의해 조절될 뿐만 아니라 [동일한 종의 개체 간에 (유사한 NMDAR 프레임워크를 갖는) 유사한 환경 자극에 대해 잠재적으로 유사한] 시냅스 후 세포의 NMDAR 프레임워크에 의해서도 정확하게 조절된다.

[0428] 이러한 시냅스 단백질의 (NMDAR 프레임워크) 발현은 동일한 종의 개체 간에 유사하지만, NMDAR에 대한 개체의 유전자 및 환경 요인(G+E)에 따라 구별된다. 후성 유전성은 (환경적 영향) NMDAR을 통한 Ca^{2+} 유입 패턴을 통하여 신경 가소성으로 해석된다. 지형적으로 서로 가깝고 동일한 유형의 세포 사이에서도, NMDAR의 (NMDAR 프레임워크의 일부) 차등적 발현은 자극 및 시냅스 전 글루타메이트 방출에 이어서 독특한 패턴의 Ca^{2+} 유입을 제공하게 된다. 덱스트로메타돈의 선택성은 병리학적 과활성 NMDAR에 대한 것으로 보이지만, 다른 아형에 대한 친화도가 다르므로 병리학적으로 과활성인 다른 수용체 아형을 차등적으로 차단할 가능성이 있다.

[0429] 또한, 다른 용량의 덱스트로메타돈은 (또한 혈장 수준, 예시 3, 도 22 및 도 23을 참조) 다른 아형에 대해 차등 효과를 가질 수 있다. 이러한 차등 효과가 완전히 밝혀지면 선택 장애 및 질병의 치료를 위한 덱스트로메타돈 및 관련 화합물의 잠재력이 완전히 드러날 수 있다.

[0430] 실험 모델에서, NMDAR 채널 차단제는 신경 공포 및 다른 세포독성 변화와 ("올리 병변(Onley lesion)") 관련이 있었다. 이러한 신경독성 변화를 일으키는 약물의 효능은 NMDA 길항제로서의 효능과 관련이 있다: 즉, MK-801 > PCP > 틸레타민 > 케타민 [Olney JW, Labruyere J, Price MT (1989) "펜시클리딘 및 관련 약물에 의해 대뇌피질 뉴런에서 유도된 병리학적 변화 (Pathological Changes Induced in Cerebrocortical Neurons by Phencyclidine and Related Drugs)". Science. 244: 1360-1362]. 덱스트로메토르판은 75mg/kg의 용량으로 투여될 때 쥐의 뇌에서 공포를 유발하는 것으로 나타났다 [Hashimoto, K; Tomitaka, S; Narita, N; Minabe, Y; Iyo, M; Fukui, S (1996) "덱스트로메토르판 투여 후 쥐의 비장피질에서 열충격 단백질 Hsp70의 유도 (Induction of heat shock protein Hsp70 in rat retrosplenial cortex following administration of dextromethorphan)". Environmental Toxicology and Pharmacology. 1 (4): 235-239]. NMDAR 길항제가 영구적인 뇌 병변을 일으킬 가능성은 치료제로서 NMDAR 길항제의 개발을 완화시켰다. 본 발명자는 덱스트로메타돈에 대한 만성 CNS 독성 가능성을 조사하기 위해 처음으로 쥐에서 시험을 실행하였다. 덱스트로메타돈 용량은 남성의 경우 0, 31.25, 62.5 및 110mg/kg/day이고, 여성의 경우 0, 20, 40 및 80mg/kg/day이었다. 메타돈 라세미체는 남성의 경우 31.25mg/kg/day, 여성의 경우 20mg/kg/day로 비교 대상으로 포함되었다. MK-801은 5mg/kg (남성) 및 2mg/kg (여성)에서 양성 대조군으로 시험되었다. 참고로, 덱스트로메타돈의 최소 시험 용량은 (32.25mg/kg/day) 동등한 인간 치료 용량의 10배 이상이었다. 부검은 매일 투여한 초기 투여 이후 8, 48 및 96 시간에 수행되었다. 뇌는 올리 병변을 식별하는 (헤마톡실린 및 에오신 + 불소 비취 B 염색) 전문 지식을 갖춘 신경병리학자에 의해 평가되었다. 임의의 시험 용량의 덱스트로메타돈은 올리 병변을 일으키지 않은 반면, 활성 대조군 MK-801은 모든 시험 동물에서 올리 병변을 일으켰다 (파일에 있는 Relmada 데이터). 이러한 데이터는 덱스트로메토르판을 포함하여 MDD에 대해 개발 중인 다른 NMDAR 채널 차단제에서 잠재적으로 볼 수 있는 CNS 손상에 대한 우려 없이, 덱스트로메타돈이 인간에서 안전하게 사용될 수 있음을 시사한다.

[0431] 또한, 유전적으로 [다른 서브유닛과 수많은 스플라이스 변이체에 (이소형) 대한 7개의 유전자 코딩 및 방대한 돌연변이 가능성] 또한 후생적으로 (배아 형성으로부터의 환경적 영향) 결정되는 개인의 선택 뉴런의 세포막에 대한 NMDAR 프레임워크는 그 개인에 대한 "정신적 특성"을 결정하게 된다 (환경 자극에 대한 개인의 반응). 진행 중인 경험-주도 신경 가소성 (시냅스 전 글루타메이트 방출에 의해 유발되는 시냅스 후 NMDAR를 통한 시냅스 후 세포에서의 Ca^{2+} 유입의 차등 패턴에 의해 조절되는) 및 NMDAR에 대한 다른 환경 영향은 (예를 들면, 폴리아민 부위와 같은 조절 부위에서의 PAM 및 NAM 또는 작용제 부위에서의 작용제, 예를 들어 NMDA/글루타메이트 부위에서의 퀴놀린산) 개인의 "정신 상태"를 결정하는데 기여하고 ("특성" 및 "상태"는 Desseilles 등, 2013에 의한 정의를 포함한다), 본 발명자의 현재 및 이전 개시에 비추어, 학습 (기억 형성, LTP, LTD) 및 각 개인에 대한 고유한 커넥톰을 기반으로 하는 G+E 패러다임을 반영한다.

[0432] 다른 NMDAR 아형에 대해 차등적이고 우선적으로 특정한 회로를 표적화하는 NMDAR에서의 작용을 갖는, 내약성이 높고, 안전하고, 효과적인 새로운 부류의 NMDAR 차단제의 (예를 들어, 덱스트로메타돈 및 본 발명자에 의해 이전 및 현재에 개시된 화합물 및 방법) 가용성은 잠재적으로 정신 장애를 치료, 예방, 및 진단할 수 있고, 또한 선택 회로의 선택된 세포 부분에서 병리학적 과활성 NMDAR 채널에서 초래되는 NMDAR의 기능장애로 인해 바람직하지 않은 "정신적 특성"의 일부일 수 있는 사회적 기능 및 작업 능력을 개선할 수 있다 (예를 들어, 특정한 수준의 정신 집중을 요구하는 작업을 실행하는 능력이 감소된).

[0433] NMDAR은 학습에서 (기억 형성, LTP, LTD) 중심적인 역할을 한다. 특정한 학습 장애는 NMDAR의 G+E 결정 기능장애에 잠재적으로 이차적인 것이다. 특정 학습 장애를 (예를 들면, ADHD) 유발 및/또는 유지하는 환경 요인을 해결하고 교정하는 것과 관련하여, 덱스트로메타돈과 같이 내약성이 높고 안전한 약물은 인지, 사회 및 운동 기술을 학습하는 신경 회로의 일부인 뉴런에 의해 발현되는 병리학적 과 활성 NMDAR을 효과적으로 조절할 수 있다. 예를 들어, 인지 및 운동 기술의 학습 및 기억 형성과 관련된 특정한 신경 회로를 방해하는 과기능 NMDAR을 조절하는 것을 제외하고, 덱스트로메타돈에 의한 NR1 및 NR2A 서브유닛 합성의 우선적 유도는 (ARPE-19 세포에 대한 예시 2에서 볼 수 있는 바와 같이 - 다른 세포 라인이 시험될 때 차등적일 가능성이 있는) CNS 성숙에 (예를 들면, NMDAR 발달 전환) 유리하게 영향을 미치고 ADHD에 대한 추가 질병-조절 효과를 제공할 수 있다.

[0434] 정상 및 병리학적 정신 발달과 인지, 사회, 감정, 감각 및 운동 기능과 기술을 포괄하는 스펙트럼은 NMDAR 프레임워크와 작업 조건, 즉 생리학적 활성 대 비조절된 병리학적 활성, 예를 들어 상기 NMDAR 프레임워크의 병리학

적 과활성 NMDAR에 의존한다. 회로의 일부인 (또는 조직이나 기관) 뉴런에 (또는 성상교세포나 추가 CNS 세포) 의해 발현되는 과활성화된 NMDAR 채널의 특정한 한계치가 그 세포에 대해 (또는 그들 세포에 대해, 조직, 기관 또는 회로가 영향을 받기 전에 둘 이상의 세포가 기능장애를 일으킬 가능성이 있기 때문에) 초과할 때, 회로는 (기관 또는 조직) 실패할 가능성이 있어 질병이나 장애가 나타날 수 있다. 학업 수행과 관련된 특정한 인지 회로에 관여되는 뉴런의 경우, ADHD가 나타날 수 있다. 내이의 유모세포의 경우, 청력 상실이 나타날 수 있다 (예시 5).

[0435] 특정 신경발달 및 신경퇴행성 질환과 뇌 노화에서 설명되는 비정상적인 배경 전기적 CNS 활동 및 비정상적인 연결은 비정상적으로 기능하는 NMDAR에 이차적일 수 있고, 적어도 초기에는 (뉴런 손실이 발생하기 이전에) 덱스트로메타돈과 같은 약물로 교정가능할 수 있다.

[0436] 본 발명자의 2a상 연구의 결과는 (신속한 발병, 강력하고 지속적인 질병-조절 효과) 처음으로 NMDAR 과활성화가 상당한 환자 서브세트에서 MDD의 원인임을 확인할 뿐만 아니라 잠재적으로 MDD와 관련된 장애의 병태생리학을 밝힌다. 예를 들면, 본 발명자는 이제 양극성 장애에서 조증이 초기에 어느 정도의 기능을 초래하는 과도한 양의 칼슘 유입을 허용하는 병리학적 과활성 채널에 의해 유발된다는 것을 개시할 수 있다 (일부 경미한 경우 - 매우 경미한 경조증 - 개인 및 사회적 웰빙과 관련된 회로 기능은 경조증에 의해 "개선"될 수 있고, 이는 생리학적 수준을 초과하는 Ca^{2+} 유입이 매우 약간 증가하여 발생할 수 있다).

[0437] 그러나, 글루타메이트의 시냅스 전 방출 증가 (경험 주도 방출), 성상교세포에 의한 재흡수 장애, PAM 또는 작용제의 작용, 또는 NMDAR 절대 수 또는 상대 아형의 세포 발현에서의 시냅스 후 변화 때문에, "과도한" Ca^{2+} 유입은 특정한 한계를 넘어 증가할 수 있고, 이는 이제 세포 기능장애 (변경된 LTP 시그널링) 및 기능장애 조증 에피소드로 나타나는 회로 장애로 이어질 수 있다. 과도한 Ca^{2+} 유입이 더 진행되고, LTP 기계를 포함하는 (전사, 합성, 조립, 시냅스 단백질의 수송) 세포 기능이 점진적으로 손상됨에 따라, 양극성 장애의 경우, 조증 에피소드 다음에 양극성 장애의 우울기가 이어진다 (MDE). 과도한 Ca^{2+} 유입으로 인한 세포 기능장애는 MDD 환자와 양극성 장애 환자의 뇌 위축에 대한 신경영상 및 사후 소견을 설명하면서 세포자멸 및 세포 사멸로 더 진행될 수 있다. 덱스트로메타돈과 같은 약물은 과도한 Ca^{2+} 유입, 기능장애 조증과 우울 단계, 및 신경 세포 사멸을 예방하여 장애의 경과를 조절할 수 있다.

[0438] 덱스트로메타돈에 의해 잠재적으로 개선되는 관련 장애의 또 다른 예는 PTSD이다. MDD와 몇 가지 표현형 특징을 공유하는 이 장애에서, 원인은 NMDAR의 이벤트-주도 활성화로 인해 감정 회로의 선택 뉴런 일부에서 과도한 Ca^{2+} 유입을 초래하는 것이 될 수 있다. 관련 장애의 또 다른 예는 범불안 장애(Generalized Anxiety Disorder, GAD) 및 사회 불안 장애(Social Anxiety Disorder, SAD)로 표현된다: 열거된 모든 MDD 관련 장애에서와 같이 이러한 관련 장애에서, 환자의 (병에 걸리기 쉬운 NMDAR 프레임워크을 갖는 피시험자) 치료 목표는 감정 회로의 선택 뉴런 부분에서 이벤트-주도의 (PAM 또는 작용제의 유무에 관계없이) 과도한 Ca^{2+} 유입일 가능성이 높다.

[0439] MDD 및 다른 연구에 대한 본 발명자의 임상 결과에 의해 나타난 동일한 메카니즘인, 병리학적 과활성 NMDAR을 통한 과도한 Ca^{2+} 유입은 스트레스 지속성 우울 장애, 파괴적 기분 조절 장애, 월경전 불쾌 장애, 산후 우울증 장애, 양극성 장애, 경조증 및 조증 장애, 범불안 장애, 사회 불안 장애, 신체 증상 장애, 사별 우울 장애, 적응 우울 장애, 외상 후 스트레스 장애, 강박 장애, 만성 통증 장애, 및 약물 사용 장애를 포함하여, MDD 관련 신경정신 장애에 대한 치료 가능성이 있다.

[0440] 또 다른 잠재적인 병리학적 메카니즘은 성상교세포의 일차적 기능장애로 표현된다. 성상교세포는 세포외 글루타메이트 농도를 매우 낮게 (낮은 nM 범위) 유지하는데 매우 중요한 역할을 하여 NMDAR의 과도한 개방 및 흥분독성을 방지한다.

[0441] 성상교세포는 시냅스 전 뉴런에 의해 방출되는 세포외 글루타메이트를 흡수하고, 글루타민 합성효소 경로를 통해 글루타메이트를 글루타민으로 전환하고, 또한 글루타민이 글루타메이트로 변환된 뉴런으로 들어가고 한 세포에서 또 다른 세포로 자극을 변환하여 전달할 때 미래의 방출을 포함하여 미래의 사용을 위해 저장되는 세포외 공간으로 글루타민을 방출한다. 성상교세포가 어떤 이유로든 기능장애가 있는 경우 (예를 들면, 퀴놀린산으로 인한, 성상교세포 NMDAR의 과도한 활성화 및 성상교세포로의 과도한 Ca^{2+} 유입 때문인 원인을 포함하여), 이 중요한 기능은 (글루타메이트-글루타민 주기의 일부) 손상될 수 있고 과도한 글루타메이트는 세포외 공간에 축적되어 흥분독성과 신경 기능장애 및 자가-유지 악순환에서의 추가 성상교세포 기능장애를 유발할 수 있다. 성상

교세포의 막에 의해 발현되는 NMDAR이 과활성화될 때 (예를 들어, PAM 또는 작용제로부터 병리학적으로 과활성 상태), 과도한 Ca^{2+}가 성상교세포로 진입하고 글루타메이트-글루타민 주기는 성상교세포 NMDAR 기능장애에 의해 손상될 수 있다.

[0442] NMDAR 채널 차단제 역할을 하는 덱스트로메타돈은 흥분독성으로부터 뉴런을 보존할 수 있을 뿐만 아니라 과활성 NMDAR을 차단함으로서 성상교세포 기능을 회복시킬 수도 있다. 따라서, 성상교세포는 생리학적 기능으로 복귀되고 글루타메이트 시냅스 전 방출로부터 m-초 이내에 생리학적으로 낮은 나노몰 수준에서 세포외 글루타메이트를 다시 한번 낮출 수 있다 (시냅스전 방출 이후에 시냅스 틈에서의 글루타메이트의 농도가 1mM에 도달한다). 그러므로, 흥분 독성은 생리적 상황하에서 흥분성 아미노산 수송체(EAAT)와 기능성 성상교세포에 의해 방지된다. 참고로, 성상교세포는 혈액 뇌장벽의 필수적인 부분이고 이들의 확장은 CNS 모세혈관과 접촉한다. 따라서, NMDAR 과활성으로 인한 성상교세포 기능장애는 CNS 세포 및 회로에 대한 병리학적 결과로 BBB를 방해할 수 있다. 이러한 성상교세포 가설은 부작용이 없는 MDD에 대한 덱스트로메타돈의 효과에 대해 추가적인 잠재적 메카니즘을 제공한다.

[0443] 주어진 뉴런의 막에서 발현된 하나 이상의 주어진 아형의 NMDAR의 특정한 퍼센트가 (예를 들어, >30%) 과활성화되면 (과도한 Ca^{2+} 유입을 허용하면), 뉴런은 효율적으로 작동을 중단하게 된다. 예를 들어, 뉴런은 BDNF의 생성을 늦추고 새로운 채널의 지속적인 생성을 늦추고 (예를 들면, NMDAR, AMPA, Kainate 서브유닛의 전사, 합성 및 조립), 또한/또는 뉴런이 효율적으로 다른 뉴런과의 통신을 중단한다. 뉴런은 생리적 합성, 조립 수송, 시냅스 단백질의 막 발현, 합성 수송 및 시냅스 강도 조절에 필요한 성장 인자의 방출을 지속적으로 유지할 필요가 있다. 이러한 신경 기능은 칼슘 유입의 NMDAR 패턴에 의해 조절되고, 패턴이 변경되면 (NMDAR 과활성화) 이러한 신경 기능이 손상된다.

[0444] 더 명확히 설명하면, 시냅스 단백질 합성과 조립의 조절 외에, 엄격하게 조절된 신경전달물질의 합성 및 수송이 또한 세포막을 가로지르는 동일한 패턴의 칼슘 전류에 의해 제어된다. 선택 뉴런에 의해 발현되는 이온 채널의 특정 비율이 (예를 들면, 30% 이상) 과활성화되면, 뉴런은 비효율적이 된다 (과도한 Ca^{2+} 유입). 동일한 회로의 일부인 충분한 수의 뉴런이 비효율적일 때, 정보의 흐름과 회로 자체가 비효율적이 되므로, 필수적인 뉴런 간 통신 경로를 (회로) 방해하게 된다. 특정한 뇌 회로가 충분히 손상되면, 일련의 증상이 (신경정신병적 상태, 장애, 질병) 나타난다. 상기에 설명된 병태생리학적 메카니즘이 (병리학적 과활성 NMDAR 채널) 특정한 시상하부 뉴런 (변형된 혈압 및 대사 장애), 간세포 (NAFLD, NASH), 랑게르한스 세포 (내당능 장애 및 당뇨병) 비뇨 생식기 (불임, 조기 난소 부전, 과민성 방광 장애를 포함한 방광 장애, 신부전) 또는 림프구 및 대식세포 (염증성 질환, 면역 체계 장애, 암)에서, 또는 혈관 및 심장 세포 (CAD, 심부전, 부정맥) 또는 혈소판 (DIC)에서 발생하는 경우, CNS 질병 및 장애를 포함하지만 그에 제한되지 않고 상기에 열거된 질병 및 장애를 포함하지만 그에 제한되지 않는 대응하는 장애 또는 질병이 나타나게 된다.

[0445] 신경 회로의 손상에 의해 유발된 증상 및 징후의 클러스터는 DSM 5에 의해 정의된 바와 같이, 신경정신 장애, 예를 들어 MDD, MDD 관련 장애, 및 본 출원에 개시된 다른 신경정신 장애를 나타낼 수 있다. 그러므로, 덱스트로메타돈은 단순한 증상 치료제가 아니라 뉴런에서의 결함 이온 채널 교체를 조절하고 뉴런에서의 (또한 다른 세포) 기능을 회복하고 뉴런 회로의 (또한 다른 회로, 조직 및 기관) 기능을 회복시키는 약물이다.

[0446] 임상적으로 의미있는 부작용이 없는 덱스트로메타돈의 치료 작용은 과활성화된 NMDAR의 선택적 표적화 및 그 기능 조절, 즉 과활성화된 NMDAR의 병리학적 개방 채널 차단의 결과이고, 새로운 기능적 NMDAR의 합성, 조립, 수송 및 발현의 생리학적 유도로 복귀되어, 신경 기능을 회복하고, 신경 회로를 회복하고, 장애 및 질병을 교정 및 예방한다. 덱스트로메타돈에 의한 이러한 작용은 모두 임상적으로 의미있는 부작용이 없을 때 발생하기 때문에 더욱 주목할만 하고, 과활성화되고 병리학적으로 개방된 NMDAR의 선택적 표적화를 강조한다. 본 발명자는 덱스트로메타돈이 NMDAR을 형성하는 단백질의 합성을 유도하고 (예시 2), 따라서 잠재적으로 기능적 뉴런 회로에 필수적인 뉴런 기능 및 연결성을 회복시킨다는 것을 개시한다. NMDAR 기능장애는 주로 신경계 뿐만 아니라 추가 신경계에서도 다양한 질병 및 장애의 원인이지만, NMDAR 수용체를 안전하고 효과적으로 조절할 수 있는 약물은 부족하다.

[0447] 덱스트로메타돈 및 유사하게 가정된 작용 메카니즘을 가진 다른 약물은 이제 다양한 질병 및 장애에 대한 잠재적인 질병-조절 치료제로 간주될 수 있다. 덱스트로메타돈과 그 유도체 및 임상적으로 의미있는 아편유사제 효과를 생성하지 않지만 쉐퍼딩 효과를 가질 수 있는 (예시 10을 참조) 다른 아편유사제 약물의 거울상 이성질체의 안전성 및 효능은 생리학적으로 작동하는 채널을 보존하면서 과활성화된 병리학적 과활성 이온 채널을 선택

적으로 표적화하는 능력과 관련이 있다. 유리한 "on" 및 "off" 채널-내 결합 및 유리한 "트래핑" 특성을 갖는 덱스트로메타돈의 수용체 결합 동역학은 (예시 6) 예를 들어, 건강한 제공자의 감독하에만 투여될 수 있는 일상적인 외래 환자 환경에서, 안전한 사용을 위해 너무 빠른 "온셋"을 가질 수 있는 약물인 케타민과 유리하게 비교된다.

[0448] 부가적으로, 본 출원인에 의해 개시된 약물이 NMDAR 기능장애로 인한 질병 과정의 초기에 투여될 때, 심각하거나 심지어 비가역적인 신경 손상이 있기 이전에, 질병 징후 및 질병 진행을 잠재적으로 예방할 수 있다. G + E 사이의 지속적이고 복잡한 상호작용으로 인해 (예를 들면, NMDAR 채널병증을 포함한 이온 채널병증에 대한 유전적 소인, 및 화학적 또한 물리적 독소와 심리적 외상을 포함한 채널에 대한 환경적 손상), 세포는 단백질 합성 및 조립을 포함하여 세포의 생리학적 기능을 지시하는, NMDAR을 포함하는 특정 퍼센트의 강장성 개방 이온 채널에 의해 특징지워지는 항상성 유지를 위해 끊임없이 작업하고 있다. 특히, 뉴런은 환경적 자극을 기반으로 (예를 들면, 신체 기관이나 외부 환경으로부터 뉴런에 도달하는 자극) 연결을 지속적으로 변경하고 있다. 가소성을 허용하는 막 수용체를 빠르게 발현할 수 있기 위해, 빌딩 블록(building block), 예를 들어 시냅스 단백질이 항상 조립되고 발현될 준비가 되어 있어야 한다. 휴지 막 전위에서 (GluN2C, GluN2D 및 가능하게 GluN3 서브유닛이 있는 NMDAR) 불완전한 차단이 있는 NMDAR에 의해 조절되는 정확한 양의 강장제 Ca^{2+} 유입은 시냅스 후 밀도에서 준비된 시냅스 단백질의 합성 및 조립에 대해 지시할 가능성이 있으므로, 자극이 시냅스 전 뉴런에 의해 글루타메이트 방출을 통해 전달될 때 시냅스 후 뉴런은 적시에 반응하고 기억을 구축할 수 있다 (막 수용체의 빠른 조립과 발현 및 다른 시냅스 강화 작용, 예를 들면 BDNF 방출, 접착 단백질의 방출 등). 강장제 Ca^{2+} 유입이 과도할 때, 준비 작업은 생산적이지 않고 (시냅스 단백질 생성에 장애가 있고) 실시간에 지속적으로 들어오는 자극이 기억으로 효과적으로 해석되지 않는다. 덱스트로메타돈은 과도한 강장제 Ca^{2+} 유입을 하향 조절하고 신경 가소성을 회복하고 잠재적으로 MDD를 치료할 수 있다.

[0449] 덱스트로메타돈, 및 아편유사제의 다른 이소형 및 덱스트로메타돈의 유도체와 같은 잠재적으로 다른 약물은 NMDAR 채널 항상성을 포함하여 이온 채널을 유지 및 복원하므로, 이러한 모든 질병 및 장애에 대한 잠재적인 질병-조절 치료를 나타내는 것 외에도, NMDAR 기능장애 과정의 매우 초기에 투여될 때, NMDAR 기능장애가 뉴런의 기능적 손상을 초래할 한계치에 도달하기 전에는 효과적인 예방 치료가 될 수 있다. 다양한 질병 및 장애에 대한 이러한 1차 및 2차 예방 작용은 예상보다 낮은 용량으로, 또는 본 출원에 개시된 간헐적 용량을 사용하는 경우에도 수행될 수 있다.

[0450] 그래서, 본 발명자는 이제 덱스트로메타돈이 MDD 및 잠재적으로 TRD에 대해 큰 효과 크기로 강력하고, 신속하고, 지속적이고, 또한 통계적으로 의미있는 효능을 갖는다는 것을 개시한다. 실험적 임상 시험은 본 예시 3에서 자세히 설명된다. 이 예상치 못한 결과는 0.5-1 mg/Kg에서 케타민에 대한 상승 한도와 유사하게, 25-50 mg에서 잠재적인 효능 상승 한도 효과를 시사한다 [Fava M, Freeman MP, Flynn M 등. 치료 저항성 우울증(TRD)의 보조 요법으로 정맥 케타민의 이중 맹검, 위약 대조, 용량 범위 시험 (Double-blind, placebo-controlled, dose-ranging trial of intravenous ketamine as adjunctive therapy in treatment-resistant depression (TRD)) Mol Psychiatry. 2018]. 부가하여, 지속적인 치료와 반대되는 "펄스" 주간 치료에 대한 신호가 있다: 25mg 그룹의 경우 두번째 주가 끝날 때 치료를 재개할 필요가 있다는 신호가 있다. 연속 치료보다는 펄스 치료의 효능에 대한 증거를 갖고 NMDAR 채널 차단제 케타민에 대한 문헌 데이터로 보완되어, PK 결과와 함께 (예시 3 MDD, PK, 25mg 그룹: 14일차까지 덱스트로메타돈의 혈장 수준은 매우 낮은 ng/ml 범위에 있다) 취해진 이 PD 신호는 (25mg 그룹: MADRAS -17.4 7일차 대 MADRAS -16.8 14일차) 유사한 용법이 (지속적 요법과 반대되는 주간 펄스 요법) 덱스트로메타돈에도 적용될 수 있음을 나타낸다.

[0451] 또한, 본 발명자는 덱스트로메타돈이 과활성 NMDAR을 차단할 뿐만 아니라 ARPE-19 세포에서 새로운 NMDAR 및 특히 2A 아형의 발현을 잠재적으로 유도할 수 있음을 처음으로 개시하여, MDD 인간 연구에서 관찰된 예상치 못한 장기간 지속되는 임상 효과를 잠재적으로 설명할 수 있다.

[0452] 본 발명자는 또한 덱스트로메타돈이 "서양 식이"에 대해 쥐에서 NAFLD를 감소시키고 염증 마커를 조절한다는 것을 개시한다 (예시 11에 나타난 바와 같이).

[0453] 본 발명자는 또한 특정 염증성 바이오마커가 변경되어 덱스트로메타돈이 염증 상태 및 신경정신 장애와 연관된 염증 상태를 잠재적으로 조절하는 경우에도 덱스트로메타돈이 효과적임을 개시한다.

[0454] 본 발명자는 1주일 동안 매일 경구 덱스트로메타돈을 투여하는 것이 MDD 및/또는 TRD 진단을 받은 환자에 대해 큰 효과 크기로 신속하고, 강력하고, 지속적이고, 또한 통계적으로 의미있는 효능을 갖는다는 것을 처음으로 보

여주었다. MDD의 적절한 진단을 보장하기 위해, 본 발명자는 환자를 선별하고 MDD의 적절한 진단의 확률을 향상시키는 검증된 도구인 SAFER를 사용하였다. SAFER는 임상 연구에 등록된 환자가 올바르게 진단되었을 확률을 개선하여 시험 결과에 대해 적절하게 평가할 수 있으므로, 치료와 관련이 없는 요인이 환자의 질병 경과를 결정하여 연구 결과를 혼동시킬 위험을 최소화한다 (Desseilles 등, 2013). SAFER에 의해 강화된 이러한 이중-맹검, 위약 대조, 전향적, 무작위 임상 시험은 덱스트로메타돈이 위약으로 무작위 배정된 환자의 관해율 5%와 비교해, 치료 첫 주 이내에, SAFER의 도움으로 MDD 진단을 받은 환자의 30% 이상에서 질병의 관해를 (MADRS < 10) 유도할 수 있음을 보여준다. 부가적으로, 덱스트로메타돈의 혈장 수준이 임상적으로 의미있는 약리학적 작용을 발휘할 것으로 예상되지 않는 수준으로 (한 자리수 ng/ml 범위) 급격히 감소되었음에도 불구하고, 관해가 치료 중단 이후 최소 1주일 동안 지속되었다. 덱스트로메타돈으로 유도된 개선은 이러한 환자 중 일부의 경우 14일차 이상 지속되었을 가능성이 있다. MADRS 등급 척도는 우울한 기분 뿐만 아니라, SAFER를 포함한 다른 진단 매개변수와 통합되어 취해진, MDD의 중증도를 진단할 수 있는 일련의 다른 증상도 측정한다. 이 시험에서 사용되는 다른 척도로 측정된 일련의 증상은 또한 DMS5에 의해 정의되고 이후 청구항에 열거된 다른 신경정신 장애의 진단에도 기여할 수 있다. 치료 중단 후 질병 관해의 이러한 지속성은 고립된 정신과적 증상의 개선보다는, 덱스트로메타돈에 대한 질병-조절 작용 메카니즘을 (예를 들어, 신경 가소성의 조절) 시사한다.

[0455] **예시 4**

[0456] A. 개요

[0457] 본 발명자는 예시 3에 설명된 2상 연구로부터의 데이터의 하위-분석을 (이후 설명되고, 아래의 도표 35와 도 38A 내지 도 38D, 및 도 38E 내지 도 38H에서) 실행하였다. 이 하위-분석은 덱스트로메타돈(REL-1017)이 MDD 과정에서 나중에 치료받은 환자에 비하여 MDD 과정에서 초기에 치료받은 환자에서 더 효과적이라는 것을 입증하였다. 이러한 예상치 못한 발견은 (다른 항우울제에 대해서는 이전에 입증된 적이 없는) 덱스트로메타돈이 MDD와 관련 장애 및 잠재적으로 다른 신경정신 장애에 대한 잠재적인 질병-조절 치료제임을 시사한다. 증상 치료는 MDD의 초기와 후기에서 동일하게 효과적이지만, 특정한 질병-조절 치료는 영구적인 손상이 발생하기 전에 장애 과정의 초기에 투여하면 더 나은 결과를 얻을 수 있다. 일반 집단에서 MDD의 유병률과 환자 및 사회에 대한 막대한 피해를 감안할 때, 현재의 증상 치료 환경 내에서 내약성이 우수한 최초의 잠재적인 질병-조절 치료법의 도입은 신경약리학 분야에 혁명을 일으킬 수 있다.

[0458] 그리고, 본 연구에서, 본 발명자는 MDD의 시작부터 수명의 퍼센트에 대한 덱스트로메타돈의 효과를 조사하였다. 그와 관련하여, 우울증의 만성성은 표준 항우울제 치료(SAT)에 대한 반응 또는 위약에 대한 반응의 신뢰할 수 있는 예측인자로 입증되지 않았다 (Papakostas GI, Fava M. 주요 우울 장애에서 치료 결과의 예측 인자, 조절자 및 중재자(상관 관계) (Predictors, moderators, and mediators (correlates) of treatment outcome in major depressive disorder). Dialogues Clin Neurosci. 2008;10(4):439-451).

[0459] SAT 및 비정형 항정신병약물과 대조적으로, 덱스트로메타돈은 MDD 시작 후 수명 비율이 낮은 MDD 환자에서 더 효과적일 수 있다.

[0460] B. 방법

[0461] 본 발명자는 1-3개의 적절한 SAT에 실패한 MDD 환자의 보조 치료로서 덱스트로메타돈의 2a상 연구의 무작위 모집단에 대한 MDD의 시작 날짜에서의 내력 데이터를 검토하였다 (예시 3에서 상기에 설명된). 우울증의 시작부터 보낸 수명의 퍼센트는 MDD의 시작 날짜로부터의 년 수를 나이로 나누고 100을 곱하여 계산하였다. 그런 다음 환자를 중앙값 이하 및 이상으로 나누었다. 치료 그룹의 환자의 MADRS CFB는 도 38A 내지 도 38D 및 도 38E 내지 도 38H 각각에 표시된 비교와 함께 짝을 이루지 않은 데이터에 대한 학생의 t 테스트(Student's t test)에 의해 위약 그룹의 MADRS CFB와 비교되었다. 분석은 소프트웨어 GraphPad Prism ver. 8.0을 사용하여 실행되었다.

[0462] C. 결과

[0463] 무작위 배정된 62명의 환자에 대한 MDD 시작 날짜로부터 수명의 중앙값 퍼센트는 23% 이었다. 덱스트로메타돈 2상 연구에서, 25mg 및 50mg의 두 시험 용량 모두에 MDD 시작부터 수명의 중앙값 퍼센트 미만의 환자는 위약 그룹과 비교하여 덱스트로메타돈 활성 치료에 현저하게 더 반응하였다. 동일한 덱스트로메타돈 2상 연구에서, 두 시험 용량에 (25mg 및 50mg) 위약 그룹과 비교하여 활성 치료에 대한 반응은 MDD 시작부터 수명의 중앙값 퍼센트 이상의 환자에 대해 통계적으로 의미가 있지 않았다 (도표 35; 도 38A 내지 도 38H를 참조).

[0464] 도 38A 내지 도 38D를 참조로: MDD 시작 날짜로부터 수명의 중앙값 퍼센트 미만인 (23% 미만) 25mg의 덱스트로메타돈으로 치료받은 환자는 또한 MDD 시작 날짜로부터 수명의 중앙값 퍼센트 미만인 (23% 미만) 위약 환자와

비교할 때 7일차(p=0.0277)(도 38A) 및 14일차(p=0.0217)(도 38B)에 MADRS 평균 점수의 의미있는 개선을 나타내었다. 치료 효과는 MDD 시작부터 수명의 중앙값 퍼센트 이상인 환자에서 동일한 분석을 실행했을 때 통계적으로 의미있지 않았다 (기록된 모든 시점에서 p >0.5)(도 38C 및 도 38D).

[0465] 도 38E 내지 도 38H를 참조로: MDD 시작 날짜로부터 수명의 중앙값 퍼센트 미만인 (23% 미만) 50mg의 덱스트로메타돈으로 치료받은 환자는 또한 MDD 시작 날짜로부터 수명의 중앙값 퍼센트 미만인 (23% 미만) 위약 환자와 비교할 때 7일차(p=0.0075)(도 38E) 및 14일차(p=0.0483)(도 38F)에 MADRS 평균 점수의 의미있는 개선을 나타내었다. 치료 효과는 MDD 시작부터 수명의 중앙값 퍼센트 이상인 환자에서 동일한 분석을 실행했을 때 통계적으로 의미있지 않았다 (기록된 모든 시점에서 p >0.1)(도 38G 및 도 38F).

[0466] D. 결론

[0467] 2상 시험으로부터의 데이터의 이러한 하위-분석에서, 덱스트로메타돈 1일 용량 25 및 50mg은 MDD 시작부터 수명의 퍼센트에 대해 중앙값(23%) 미만의 환자에서 위약에 비하여 MADRS 점수를 감소시키는데 현저하게 효과적이었다. 동일한 데이터가 MDD 시작부터 수명의 퍼센트에 대해 중앙값(23%) 이상의 환자에 대해 분석되었을 때, 결과는 시험된 두 용량 모두에서 통계적 유의성에 도달하지 않았다. MDD의 만성과 관련된 이러한 차등적인 치료 효과는 모노아민성 약물이나 비정형 항우울제에 대해 이전에 보고된 적이 없고 케타민 또는 에스케타민에 대해서도 설명되지 않았다. 질병-조절 치료는 일반적으로 박테리아 감염에 대한 항생제, 갑상선 기능 저하증에 대한 갑상선 호르몬과 같이, 질병 진행 초기에 투여될 때 최상의 결과를 얻는다. 증상 치료, 예를 들어 우울증에 대한 SSRI 및 불안에 대한 벤조디아제핀은 질병이 진행되는 동안 언제든지 증상 효과를 생성하게 된다. 덱스트로메타돈의 통계학적으로 의미있는 치료 효과는 MDD 과정의 후기와 비교하여 더 일찍 투여되었을 때 예시 3에서 예상되는 질병-조절 효과를 확인하게 된다. 또한, 이러한 발견은 덱스트로메타돈 요법 및 심리 요법을 포함한 다른 요법에 대한 반응 가능성이 더 높은 환자를 선택하는데 도움이 될 수 있다.

[0468] 마지막으로, 임상 변수가 치료 반응에 큰 영향을 미칠 때, 계층화는 특히, 중간 분석이 계획된 경우 제1종 오류를 방지하고 소규모 시험에 대한 (<400명의 환자) 검정력을 향상시킬 수 있다 [Kerman 등, 1999; Broglio K. 임상 시험의 무작위화: 순열 블록 및 계층화 (Randomization in Clinical Trials: Permuted Blocks and Stratification). JAMA. 2018;319(21):2223-2224; Saint-Mont U. 별로 도움이되지 않는 무작위화 (Randomization Does Not Help Much), Comparability Does. PLoS One. 2015;10(7):e0132102. Published 2015 Jul 20]. 계획된 임상 시험의 맥락에서, MDD 시작부터 수명 중 몇 년 동안 중앙값 이상 또는 이하의 환자의 계층화는 그룹 간의 비교가능성을 향상시킬 뿐만 아니라 잠재적으로 질병-조절 효과가 있는 치료를 시사할 수도 있다. 또한, MDD 임상 시험의 맥락에서, MDD 시작부터 수명 중 몇 년 동안 중앙값 이상 또는 이하의 환자의 계층화는 잠재적으로 질병-조절 효과가 있는 치료를 시사할 수 있다. 본 발명자에 의한 이러한 발견의 결과로, 덱스트로메타돈 및 잠재적으로 다른 안전하고 내약성이 높은 경구 NMDAR 채널 차단제는 MDD 및 관련 장애에 대한 1차 치료제가 빠르게 될 수 있다.

표 35

[0469] 도표 35: CFB=기준선으로부터의 변화

치료	MDD 시작부터 % 수명: 23%=중앙값	MADRS 평균 CFB 7일차	MADRS 평균 CFB 14일차
25mg			
N=12	23% 이하 평균: 12.93%	-18.91	-18.54
N=7	23% 이상 평균: 42%	-13.14	-11.4
50mg			
N=8	23% 이하 평균: 12.89%	-20	-21.5
N=13	23% 이상 평균: 47%	-14.46	-15.9
25+50mg			
N=20	23% 이하 평균: 12.91%	-19.35	-19.78
N=20	23% 이상 평균: 46%	-14	-14.4

위약			
N=11	23% 이하 평균: 8.25%	-8	-6.8
N=11	23% 이상 평균: 49%	-9.5	-7.5

[0470] **예시 5**

[0471] 개요: 본 예시 5는 겐타마이신 퀴놀린산이 내인성 물질 (예를 들면, 염증 중간체) 및 외인성 물질에 (예를 들면, 약물 및 다른 독소) 의해 병리학적으로 활성화된 NMDAR 채널을 조절하는데 효과적임을 입증한다.

[0472] **파트 I: NMDAR에서의 양성 알로스테릭 조절제(PAM)**

[0473] A. 배경

[0474] 이독성 및 신독성 약물 겐타마이신은 GluN1과 GluN2A, GluN2B, GluN2C, 또는 GluN2D 서브유닛 중 하나를 포함하는, 이형체 재조합 인간 NMDAR을 발현하는 안정한 세포 라인에서 NMDAR의 양성 알로스테릭 조절자(PAM)로 작용한다.

[0475] 덱스트로메타돈은 과활성 NMDAR을 통해 Ca^{2+} 유입을 감소시킴으로서 겐타마이신의 (또한 NMDAR의 다른 PAM) 독성 효과를 중화시킨다. 특히, 덱스트로메타돈은 PAM 신독성 및 이독성 약물 겐타마이신에 의해 과활성화된 NMDAR을 통해 과도한 Ca^{2+} 유입을 중화시킨다.

[0476] 선택된 장애 및 질병은 PAM 및/또는 NMDAR의 작용제에 의해 유발될 수 있고, 예를 들어, 장애 및 질병은 알로스테릭 조절을 통해 또한/또는 NMDAR의 NMDA 부위에 대한 작용제 작용을 통해 선택 조직 또는 회로의 선택된 세포 일부에서 선택된 NMDAR의 독소-유도 과활성화에 의해 유발될 수 있다.

[0477] 감각-신경 청력 손상은 나선 신경절 뉴런(spiral ganglion neuron, SGN)의 손상으로 인해 발생할 수 있다. SGN은 청각 정보를 귀에서 뇌로 전달하는 양극성 뉴런이다. 생리학적으로 기능하는 SGN은 정상적인 청력의 보존에 필수적이고, 그 기능과 생존은 유전적 및 환경적 상호작용에 의존한다.

[0478] MK-801을 사용한 NMDA 길항작용은 실험 조건에서 겐타마이신에 단기간 노출된 이후 신장 손상을 개선하였다 (Leung JC, Marphis T, Craver RD, Silverstein DM. 신장 독성에서 변경된 NMDA 수용체 발현: 수용체 길항제에 의한 보호 (Altered NMDA receptor expression in renal toxicity: Protection with a receptor antagonist). Kidney Int. 2004;66(1):167-176).

[0479] 그리고, NMDAR은 CNS에서 뿐만 아니라 주변부에서도 발현된다 (Du 등, 2016).

[0480] 겐타마이신과 같은 신독성 및/또는 이독성 약물은 SGN 및 신장 세포에서 발현되는 NMDAR의 PAM으로 작용함으로서 감각신경성 청력 손상 및 신독성을 유발할 수 있다. PAM은 세포에서의 과도한 Ca^{2+} 유입 및 흥분독성을 (Cam-CaMKII, RAS, 및 PI3K 시그널링의 후성 유전적 조절장애) 유발할 수 있다. NMDAR 비경쟁적 채널 차단제 작용을 갖는 것으로 나타났고 (예시 1), MDD 환자에서 신속하고, 강력하고, 지속적인 임상 효과를 제공하는 것으로 나타났고 (예시 3), 또한 신경 가소성 효과를 발휘하는 것으로 나타났던 (예시 2), 잠재적으로 효과적인 새로운 약물인 덱스트로메타돈은 동일한 세포 또는 다른 세포에 영향을 미치는 겐타마이신 또는 다른 PAM과 함께 투여될 때 잠재적으로 이독성 및 신독성 효과를 예방할 수 있었다.

[0481] 부가하여, 동일한 메카니즘인, NMDAR 작용제 (예를 들어, 글루타메이트 또는 글리신 또는 글루타메이트 작용제 퀴놀린산) 및/또는 다수의 PAM에 의한 과도한 자극에 의해 과활성화된 선택 조직 또는 회로의 선택된 세포 부분에서 과도한 Ca^{2+} 유입의 하향 조절에 의해, 덱스트로메타돈은 PAM 및/또는 NMDA 작용제로 인한 MDD의 선택 사례를 포함하여, 과도한 Ca^{2+} 유입에 의해 유발, 유지 또는 악화되는 장애를 예방, 치료 또는 진단할 수 있다. MDD를 유발, 악화 또는 유지할 때 글루타메이트 작용제로서 또한 다른 메카니즘에 의한 신경독성제로서의 퀴놀린산의 역할은 잘 알려져 있다 [Guillemin 등, 2012; Schwarcz R, Bruno JP, Muchowski PJ, Wu HQ. 포유류 뇌의 키누레닌: 생리학이 병리학을 만났을 때 (Kynurenines in the mammalian brain: when physiology meets pathology). Nat Rev Neurosci. 2012;13(7):465-477; Lovelace MD, Varney B, Sundaram G 등. 신경계 질환에서 트립토판 대사의 키누레닌 경로의 확장된 역할에 대한 최근의 증거 (Recent evidence for an expanded role

of the kynurenine pathway of tryptophan metabolism in neurological diseases). Neuropharmacology. 2017;112(Pt B):373-388].

[0482] B. 연구의 프레임워크

[0483] FLIPR 칼슘 분석은 GluN1과 GluN2A, GluN2B, GluN2C, 또는 GluN2D 서브유닛 중 하나를 포함하는, 이형체 재조합 인간 NMDAR을 발현하는 안정한 세포 라인을 사용하여 겐타마이신을 프로파일링하는데 사용되었다. 10μM 겐타마이신 효과는 3가지 다른 L-글루타메이트 농도에 대해 평가되었다: 4개의 NMDAR 세포 라인을 사용한, 0.04, 0.2 및 10μM. 그리고, 10μM 덱스트로메타돈 첨가는 10μM 겐타마이신의 유무와 관계없이, 3가지 L-글루타메이트 농도에 대해 평가되었다.

[0484] C. 결과

[0485] 0.04μM L-글루타메이트에 대한 10μM 겐타마이신의 효과는 (데이터는 평균 ± SEM, 각 그룹에 대해 n=30이다) 다른 세포 라인에 대해 도 27A 내지 도 27D에 도시된다. 도면에서 볼 수 있는 바와 같이, 매우 낮은 농도의 글루타메이트(0.04μM)는 모든 세포 라인에서 칼슘 진입을 유도하였다 [GluN2D > GluN2C > GluN2B > GluN2A]. 또한, 10μM 겐타마이신은 GluN2A 및 GluN2B 세포 라인의 경우 P<0.0001로 0.04μM L-글루타메이트에 의해 유도된 칼슘 진입을 현저하게 증가시켰지만, GluN2C 및 GluN2D 세포 라인의 경우 P<0.05만 증가시켰다. 그리고, 10μM 덱스트로메타돈은 10μM 겐타마이신의 존재 및 부재하에서, 모든 세포 라인에 대해 P<0.0001로, 0.04μM L-글루타메이트에 의해 유발된 칼슘 진입을 현저하게 감소시켰다.

[0486] 다음으로, 0.2μM L-글루타메이트에 대한 10μM 겐타마이신의 효과는 (데이터는 평균 ± SEM, 각 그룹에 대해 n=30이다) 다른 세포 라인에 대해 도 28A 내지 도 28D에 도시된다: 도면에서 볼 수 있는 바와 같이, 낮은 농도의 글루타메이트 0.2μM는 모든 세포 라인에서 칼슘 진입을 유도하였다 [GluN2D > GluN2C > GluN2B > GluN2A]. 또한, 10μM 겐타마이신은 GluN2A(P<0.0001) 및 GluN2B(P<0.05) 세포 라인에 대해서만 0.2μM L-글루타메이트에 의해 유도된 칼슘 진입을 현저하게 증가시켰고, GluN2D 세포 라인(P< X,X)에서는 칼슘 유입을 감소시켜, 이 세포 라인에 대해서는 음성 알로스테릭 조절자(NAM)로 작용한다. 그리고, 10μM 덱스트로메타돈은 10μM 겐타마이신의 존재 및 부재하에서 GluN2A, GluN2B, GluN2C 세포 라인에 대해 P<0.0001이지만, GluN2D 세포 라인에 대해 겐타마이신의 존재하에서 P<0.005로, 0.2μM L-글루타메이트에 의해 유발된 칼슘 진입을 현저하게 감소시켰다.

[0487] 마지막으로, 10μM L-글루타메이트에 대한 10μM 겐타마이신의 효과는 (데이터는 평균 ± SEM, 덱스트로메타돈이 없는 그룹에 대해 n=30이고, 나머지 그룹에 대해 n=20이다) 다른 세포 라인에 대해 도 29A 내지 도 29D에 도시된다: 도면에서 볼 수 있는 바와 같이, 글루타메이트 10μM은 Glu2D를 제외한 모든 세포 라인에서 Ca^{2+} 유입을 최대로 유도하였다. 또한, 10μM 겐타마이신은 GluN2B 및 GluN2D 세포 라인에 대해 10μM L-글루타메이트에 의해 유도된 칼슘 진입을 조절하지 않은 반면, GluN2A(P<0.0001) 및 GluN2C(P<0.05) 세포 라인에서는 칼슘 진입을 현저하게 감소시켰다. 따라서, 매우 낮은 글루타메이트 농도가 존재할 때의 효과와 대조적으로, 글루타메이트가 최대 Ca^{2+} 유입을 유도하는 효과를 발휘할 때, 겐타마이신은 4개의 시험된 라인 중 2개에서만 (Glu2A 및 Glu2C) NAM으로 작용하였다. 그리고, 10μM 덱스트로메타돈은 모든 세포 라인에 대해 P<0.0001로, 10μM 겐타마이신의 존재 및 부재하에서 10μM L-글루타메이트에 의해 유발된 칼슘 진입을 다시 한 번 현저하게 감소시켰다.

[0488] D. 논의

[0489] 상기에 기술된 바와 같이, 낮은 농도의 글루타메이트(0.04μM 및 0.02μM)는 모든 세포 라인 GluN2D > GluN2C > GluN2B > GluN2A에서 칼슘 진입을 유도하였다. 글루타메이트 10μM은 모든 세포 라인에서 Ca^{2+} 진입을 최대로 유도하였다. 10μM 겐타마이신은 GluN2A 및 GluN2B 세포 라인에 대해 P<0.0001로, 또한 GluN2C 및 GluN2D 세포 라인에 대해 P<0.05로, 0.04μM L-글루타메이트에 의해 유도된 칼슘 진입을 현저하게 증가시켰다. 그리고, 10μM 덱스트로메타돈은 모든 세포 라인에 대해 P<0.0001로, 10μM 겐타마이신의 존재 및 부재하에서 0.04μM L-글루타메이트에 의해 유발된 칼슘 진입을 현저하게 감소시켰다.

[0490] NMDAR에 대한 10μg/ml 겐타마이신 효과는 L-글루타메이트 농도에 의존하는 것으로 나타났다: 모든 시험된 세포 라인에서, GluN2A 및 GluN2B 세포 라인에 대해 P<0.0001로, 또한 GluN2C 및 GluN2D 세포 라인에 대해 P<0.05로, 0.04μM L-글루타메이트에서 양성 조절이 검출되었고; 0.2μM L-글루타메이트에서는 GluN2A(P<0.0001) 및 GluN2B(P<0.05) 세포 라인에서만 양성 조절이 검출되었고, Glu2D 세포 라인에 대해서는 음성 조절이 검출되었다. 10μM L-글루타메이트에서는 시험된 모든 세포 라인에서 양성 조절이 없었지만, Glu2A

및 Glu2C에 대해서는 음성 조절이 검출되었다.

[0491] 10μM 덱스트로메타돈은 모든 시험된 세포 라인에서, 10μM 겐타마이신의 유무에 관계없이, 0.04, 02 또는 10μM L-글루타메이트에 의해 유도된 세포내 칼슘 수준을 낮출 수 있었다.

[0492] 과도한 Ca^{2+} 유입으로 유발된 질병 및 장애의 치료에 대한 덱스트로메타돈의 유효성은 상기의 결과 및 예시 1에 의해 나타난 바와 같이, 글루타메이트의 농도나 PAM 또는 NAM의 존재와 독립적으로, 과도하게 열린 상태로 남아 있는 NMDAR을 선택적으로 차단하는 능력에 의해 결정될 수 있다. NMDAR 매개 이독성 및 신독성 효과가 있는 겐타마이신과 같은 약물에 대한 이러한 결과는 과도한 Ca^{2+} 유입에 의해 유발되거나 유지되는 질병 및 장애의 주요 원인이 NMDAR의 장기간의 (강장적 및 병리학적) 활성화에 의해 유발될 수 있음을 시사한다. 잠재적으로 흥분독성을 유도하는 강장적 활성화는 매우 낮은 농도에서도 또는 시냅스 후 NMDAR에서의 PAM의 존재에서 시냅스 전 글루타메이트 방출에 의해 또는 시냅스 틈에서 EAAT에 의한 결함 글루타메이트 클리어런스에 의해 유발될 수 있다.

[0493] E. 결론

[0494] NMDAR 활성의 (Ca^{2+} 유입) 겐타마이신 양성 조절은 L-글루타메이트 농도와 NMDAR 아형 모두에 의존하는 것으로 나타났다 (다른 농도의 글루타메이트를 사용한 차등 조절 및 차등 NMDAR 아형을 사용한 차등 조절).

[0495] NMDAR의 조절제로서 겐타마이신의 효과는 다른 농도의 글루타메이트에 의해 수행되는 NMDAR의 차등 활성화에 의존하는 것으로 나타난다.

[0496] 흥미롭게, Ca^{2+} 진입의 매우 낮은 또한 낮은 농도의 글루타메이트(0.04 및 0.2 microM) 유도는 알려진 NMDAR 채널 아형 동역학을 따랐다 [GluN2D > GluN2C > GluN2B > GluN2A]. 글루타메이트 10μM은 Glu2D를 제외한 모든 세포 라인에서 Ca^{2+} 유입을 최대로 유도하였다.

[0497] 겐타마이신 10μg/ml는 0.04와 같이 매우 낮은 L-글루타메이트 농도에서 세포내 칼슘 수준의 양성 조절 효과를 나타냈다. 이러한 매우 낮은 글루타메이트 농도는 청각 경로를 형성하는 신경 세포와 유모 세포의 시냅스에 강장적으로 존재할 수 있고, 글루타메이트 또는 알로스테릭 NMDAR 향상에서의 병리학적 증가는 유모 세포 손실로 이어질 수 있다 (Moser T, Starr A. 청각 신경병증 - 신경 및 시냅스 메카니즘 (Auditory neuropathy--neural and synaptic mechanisms). *Nat Rev Neurol*. 2016;12(3):135-149; Sheets L. 이온성 글루타메이트 수용체의 과도한 활성화는 구심성 및 원심성 신경 분포와 무관하게 세포 사멸 유모 세포 사멸을 유도한다 (Excessive activation of ionotropic glutamate receptors induces apoptotic hair-cell death independent of afferent and efferent innervation). *Sci Rep*. 2017;7:41102. Published 2017 Jan 23).

[0498] 10μM 덱스트로메타돈은 겐타마이신 유무에 관계없이, 시험된 모든 세포 라인에서 세포내 칼슘 수준 유도 0.04, 02, 10μM L-글루타메이트를 낮출 수 있었다.

[0499] 겐타마이신이 매우 낮은 또한 낮은 L-글루타메이트 농도에서 NMDAR을 통해 Ca^{2+}를 증가시킨다는 입증은 겐타마이신 이독성(신독성)의 메카니즘으로서 SGN에서 (신장 세포) NMDAR의 PAM을 지원한다. 따라서, 특정 세포에 선택적인 독소(PAM)에 의한 NMDAR의 과활성화는 다양한 장애 및 질병을 유발하거나 유지하는데 과도한 Ca^{2+} 유입의 가능한 원인이 된다. 예를 들면, 예시 3에 제시된 일부 환자에서, MDD는 NMDAR의 NMDA 부위 또는 글리신 부위에서 PAM 및/또는 작용제에 의해 유발되었을 수 있다. 예시 3에 제시된 MDD 환자에서, 선택된 뉴런에서의 Ca^{2+} 유입의 하향조절은 장애의 해소를 일으켰다. 이러한 환자의 과도한 Ca^{2+}에 대한 정확한 개별 원인은 알려져 있지 않지만, 잠재적인 원인은 다음과 같다: 과도한 시냅스 전 글루타메이트 방출, 시냅스 후 도메인에서의 PAM, NMDAR에서의 작용제, 시냅스 틈에서 EAAT에 의한 결함 글루타메이트 클리어런스, 또는 상기의 원인의 조합.

[0500] 장애 및 질병의 서브세트, 특히 신경정신 질병 및 장애 뿐만 아니라, 안과, 이비인후과, 대사, 심혈관, 호흡기, 신장, 간, 췌장, 폐, 뼈, 응고 장애는 PAM (예를 들어, 겐타마이신 또는 다른 독소) 및/또는 작용제에 (예를 들어, 퀴놀린산 또는 다른 독소) 의해 활성화된 NMDAR을 통한 비정상적인 Ca^{2+} 유입 패턴으로 인해 발생할 수 있고, 다양한 수준의 흥분독성, 세포 손상, 및 세포 사멸으로도 이어진다. 특히, 예시 3에서의 본 발명자의 발견은 적어도 MDD 환자의 서브세트에 대해, 장애의 원인이 선택 회로의 선택된 세포 일부에서의 과도한 Ca^{2+} 유입

이었음을 강력하게 제시한다. 차례로, MDD의 원인으로서 과도한 Ca^{2+} 유입에 대한 이러한 강한 시사, 및 예시 1-11에서의 결과는 다양한 CNS 및 CNS 외 장애가 잠재적으로 선택 조직 및/또는 회로의 선택된 세포 일부에서의 과도한 Ca^{2+} 유입으로 인해 발생되고, 과활성화된 (글루타메이트, 다른 내인성 또는 외인성 작용제 및/또는 내인성 또는 외인성 PAM에 의해) 이온 채널을 통한 이러한 과도한 Ca^{2+} 유입이 덱스트로메타돈과 같은 NMDAR 차단제에 의해 선택적으로 하향조절될 수 있음을 제시한다. 덱스트로메타돈에 의해 수행되는 것과 같이, 병리학적 과활성화 채널에 대한 NMDAR 채널 차단제의 선택적 작용은 부작용을 최소화하기 위해 중요하다.

[0501] 이독성 약물인 겐타마이신에 의한 Ca^{2+} 유입의 긍정적인 조절이 매우 낮은 글루타메이트 농도에서 분명하다는 발견은 주목할 만하다. 이는 특정 세포에 대해 독성 PAM 및/또는 작용제의 영향에 취약할 수 있는 생리학적으로 낮은 수준의 Ca^{2+} 유입 상태가 있음을 제시한다.

[0502] 모든 시험된 세포 라인에서 글루타메이트 0.04, 0.2 및 10 μM L-글루타메이트에 의해 유도된 세포내 칼슘 수준에 대한 덱스트로메타돈의 하향조절 효과는 PAM 및/또는 작용제의 존재 또는 부재하에서 선택된 세포에서의 과도한 Ca^{2+} 유입으로 인해 발생하는 다양한 질병 및 장애에 대한 잠재적 예방 또는 치료 효과를 제시한다.

[0503] 예시 1-11에서 (본 예시 5를 포함하여) 제시된 결과는 과도한 Ca^{2+} 유입에 의해 유발되거나 유지되는 선택된 질병에 대해 특정한 선택 세포에서, 글루타메이트 (매우 낮은 농도에서도) 및/또는 PAM 및/또는 작용제에 의한 과도한 NMDAR 활성화로 발생되는 질병 및 장애에 대한 덱스트로메타돈의 질병-조절 효과를 시사한다. 과활성화된 NMDAR에 대해 선별된 활성을 지닌 덱스트로메타돈과 같은 내약성 약물의 가용성은 과도한 Ca^{2+} 진입으로 인한 질병을 식별, 분류, 진단, 예방 및 치료하는데 도움이 될 것이다.

[0504] 또한, 덱스트로메타돈은 겐타마이신의 잠재적인 독성 효과를 항상 극복할 수 있었고, 겐타마이신 및 다른 PAM으로 인한 청력 손상 및 신장 손상에 대해서 뿐만 아니라, 독성 PAM으로 인한 다양한 질병 및 장애에 대해서도 잠재적으로 매우 효과적인 예방 및 질병-조절 효과를 시사하므로, 선택된 장애에 대해 특정한 PAM을 식별하는데 도움이 될 수 있다.

[0505] **파트 II: NMDAR에서의 작용제 및 PAM**

[0506] 예시 5의 이 파트는 GluN1-GluN2A, -2B, -2C 및 -2D 세포 라인을 사용한 FLIPR 칼슘 분석의 작용 방식을 통해 덱스트로메타돈, 퀴놀린산, 및 겐타마이신을 살펴본다.

[0507] 다음은 예시 5의 파트 II에서 사용되는 약자의 목록이다.

약자	정의 또는 확장 용어
AUC	곡선 아래 면적(Area under the curve)
CHO	중국 햄스터 난소(Chinese hamster ovary)
CRC	농도 반응 곡선(Concentration response curve)
DMSO	디메틸 술폭시드(Dimethyl sulfoxide)
EC_{50}	최대 반응의 절반을 제공하는 약물 농도(Drug concentration that gives)half-maximal response
FLIPR	형광 이미징 플레이트 리더(Fluorescence imaging plate reader)
Gly	글리신(Glycine)
GLP	좋은 실험실 관행(Good laboratory practice)
IC_{50}	약물에 대한 최대 억제 농도의 절반(Half maximal inhibitory concentration for a drug)
Log	밑이 10인 로그(Base 10 logarithm)
L-glu	L-글루타메이트(L-glutamate)
MW	분자 무게(Molecular weight)
NA	이용가능하지 않음(Not available)
NMDA	N-메틸-D-아스파테이트(N-methyl-D-aspartate)
NMDAR	N-메틸-D-아스파테이트 수용체(N-methyl-D-aspartate receptor)
MOR	μ-아편유사제 수용체(μ-opioid receptors)
pEC_{50}	몰 EC_{50} 값의 음의 로그(negative log of the molar EC_{50} value)
LTP LTD	장기 강화 장기 우울증(Long Term Potentiation Long Term Depression)
SEM	평균의 표준 오차(Standard error of the mean)

[0508]

[0509] A. 서론

[0510] FLIPR-칼슘 분석은 4가지 인간 재조합 NMDA 수용체 유형인 GluN1-GluN2A, GluN1-GluN2, GluN1-GluN2C, GluN1-GluN2D에서, 40 또는 200nM 글루타메이트 또는 10μM 겐타마이신 유무에 관계없이, 10μM 글리신의 존재하에서, 덱스트로메타돈 또는 퀴놀린산의 효과를 평가하는데 사용되었다.

[0511] B. 시험 항목

[0512] 2.1 시험 항목은 도표 36(아래)에 도시된다.

표 36

[0513] 도표 36

명칭	MW	공급자	코드	CAS
덱스트로메타돈 염산염	345.91	Padova University		5653-80-5 (base)
퀴놀린산	167.12	Merck Sigma-Aldrick	P63204-100G	89-00-9
겐타마이신 황산염	~681.58	Merck Sigma-Aldrick	G1264-250MG	1405-41-0
글루타민산	187.1	Merck Sigma-Aldrick	G1626	142-47-2 (anhydrous)
글리신	75.07	Merck Sigma-Aldrick	G7403	56-40-6

[0514] 시험 항목은 적절한 농도로 H_2O (겐타마이신, L-글루타메이트, 글리신) 또는 화합물 완충액(퀴놀린산)에 용해시킨 다음 즉시 사용할 때까지 -20℃에서 사용 또는 보관되었다.

[0515] 스톡 농도는 다음과 같다: 50x = 퀴놀린산의 경우 50mM; 400x = 겐타마이신의 경우 40 또는 4mg/ml; 400x = L-글루타민산 및 글리신의 경우 4mM; 2.000x = 덱스트로메타돈의 경우 20mM.

[0516] C. 시험 시스템

[0517] 시험 항목은 이형체 인간 NMDA 수용체를 (NMDAR) 발현하는 4개의 CHO 세포 라인을 사용하여, 10M 글리신의 존재

하에서, 칼슘 진입을 단독으로 또는 조합하여 조절하는 능력에 대해 FLIPR에서 평가되었다: GluN-/GluN2A-CHO, GluN1-GluN2B-CHO, GluN1-GluN2C-CHO, GluN1-GluN2D-CHO.

[0518] D. 실험 설계

[0519] 이 연구의 첫번째 목표는 10μM 글리신의 존재하에서 퀴놀린산 또는 겐타마이신 CRC 효과를 평가하는 것이었다. 11가지 농도의 퀴놀린산이 평가되었다: 1,000μM, 333μM, 111μM, 37μM, 12μM, 4.1μM, 1.4μM, 457nM, 152nM, 51nM, 및 17nm. 그리고, 11가지 농도의 겐타마이신이 평가되었다: 100μM, 33μM, 11μM, 3.7μM, 1.2μM, 412nM, 137nM, 46nM, 15nM, 5.1nM, 및 1.7nM .

[0520] 10μM 덱스트로메타돈 유무에 관계없이, 10μM 글리신의 존재하에서 퀴놀린산 (0.1, 1-, 10, 100, 1000μM) 효과를 평가하기 위한 임시 테스트도 설계되었다.

[0521] 10μM 덱스트로메타돈 유무에 관계없이, 퀴놀린산 (0.1-1-10-100-1000μM) 및 10μM 글리신에 추가하여, 40 또는 200nM 글루타메이트 또는 10μM 겐타마이신의 복합 효과도 또한 평가되었다.

[0522] 세포내 칼슘 수준의 FLIPR 결정은 NMDAR 활성화에 대한 판독값으로 사용되었다.

[0523] E. 방법 및 과정

[0524] 400x 화합물 플레이트는 Echo Labcyte 시스템에 의해 모든 웰에 다음을 포함하여 준비되었다: H_2O 중 400x L-글루타메이트/글리신 용액의 300nl/well 및 DMSO 중 400x 시험 항목 용액의 300nl/well. 400x 화합물 플레이트는 FLIPR 실험일까지 -20° C에서 보관되었다.

[0525] FLIPR 실험일에 최대 30㎕/well의 화합물 완충액을 추가하여 400x 화합물 플레이트로부터 4x 화합물 플레이트를 생성하였다.

[0526] FLIPR 시스템을 사용하여 NMDAR 세포 라인에서 세포내 칼슘 수준을 모니터링하고, Fluo-4로 1시간 동안 미리 로딩한 다음, 분석 완충제로 세척하였다. 세포내 칼슘 수준은 L-글루타메이트 및 글리신의 존재하에서, 시험 항목 추가 이전 10초 및 이후 5분 동안 모니터링되었다.

[0527] F. 데이터 처리 및 분석

[0528] 형광의 AUC 값은 시험 항목 추가 이후 5분 동안 칼슘 수준을 모니터링하기 위해, ScreenWorks 4.1(Molecular Devices) FLIPR 소프트웨어에 의해 측정되었다 (AUC 10-310s). 이이서, 데이터는 10μM L-글루타메이트와 10μM 글리신이 추가된 웰을 (컬럼 23) 높은 대조군으로 사용하고 분석 완충액만 추가된 웰을 (컬럼 24) 낮은 대조군으로 사용하여, Excel 2013(Microsoft Office) 소프트웨어로 정규화되었다.

[0529] 플레이트 품질을 평가하기 위해, Z' 계산이 Excel에서 실행되었다. Z'는 다음의 식에 따라 계산되었다:

[0530] $$Z' = 1 - 3(\sigma_h + \sigma_l)/|\mu_h - \mu_l|$$

[0531] 여기서, μ 및 σ는 각각 높고(h) 낮은(l) 대조군의 평균 및 평균의 표준 편차이다.

[0532] 시험 항목 IC_{50} 값은 XLfit에 의한 4개의 매개변수 로그식을 사용하여, 모든 NMDA 수용체 유형에 대해, 최소 반응이 50% 미만으로 나타날 때 최대 억제가 50% 이상이 되도록 계산되었다:

[0533] Y=Bottom + (Top-Bottom)/(1+10^((LogEC50-X)*HillSlope))

[0534] 여기서, Y는 10μM L-글루타메이트와 10μM 글리신에 대한 % 효과이고, X는 시험 항목 몰 농도이다.

[0535] 시험 항목 CRC 데이터는 다른 실험 조건에서 Prism 8 GraphPad 소프트웨어로 플롯되었다. 그리고, Prism 8 GraphPad 소프트웨어에 의해 실행된 컬럼 분석은 단일 통합 분산을 사용하여 Tukey의 다중 비교 시험으로 이어지는 단방향 ANOVA이었다.

[0536] G.프로토콜 편차

[0537] 덱스트로메타돈의 2000x 농축 용액의 (20mM) 준비는 DMSO가 아닌 H_2O에서 발생하였다. 이 프로토콜 편차는 전체적인 해석에 영향을 미치거나 연구의 무결성을 손상시키지 않았다.

[0538] H. 결과

[0539] 1. 플레이트 Z' 값

[0540] 모든 세포 라인에 (GluN1-GluN2A, GluN1-GluN2B, GluN1-GluN2C, GluN1-GluN2D) 대해 6개의 세포 플레이트가 모든 시험 항목을 포함하는 동일한 화합물 플레이트로 시험되었다. 모든 세포 플레이트는 Z' 값 > 0.5로 나타났고 승인되었다.

[0541] GluN1-GluN2A 플레이트에 대한 Z' 값은 다음과 같이 나타났다: 0.78 - 0.81 - 0.78 - 0.82 - 0.87 - 0.80.

[0542] GluN1-GluN2B 플레이트에 대한 Z' 값은 다음과 같이 나타났다: 0.72 - 0.63 - 0.68 - 0.71 - 0.75 - 0.69.

[0543] GluN1-GluN2C 플레이트에 대한 Z' 값은 다음과 같이 나타났다: 0.57 - 0.62 - 0.57 - 0.61 - 0.70 - 0.63.

[0544] GluN1-GluN2D 플레이트에 대한 Z' 값은 다음과 같이 나타났다: 0.74 - 0.81 - 0.83 - 0.80 - 0.80 - 0.81.

[0545] 2. 퀴놀린산

[0546] GraphPad Prism에 의한 4가지 NMDA 수용체 유형에서의 퀴놀린산 CRC 플롯은 도 30에 제시된다. 퀴놀린산 CRC는 10 μM 글리신 존재하에서 획득되었다. 그리고, 데이터는 평균 ± SEM, n=6으로 보고된다.

[0547] 4개의 NMDA 수용체 유형에서 퀴놀린산 최적 적합 값은 GraphPad Prism에 의해 계산되었고 도표 37에서 다음과 같이 주어진다:

표 37

[0548] 도표 37

	2A	2B	2C	2D
pEC_{50}	3.1	3.8	<3	3.3
EC_{50}(μM)	850 *	170	>1000	520
최소 반응(%)	-1.9	-2.1	-4.0	-1.3
최대 농도에서의 반응(%)	40	25	-4.0	50

[0549] * GluN1-GluN2A 적합성은 최대 반응을 75%에서 제한함으로서 획득되었다.

[0550] 3. 겐타마이신

[0551] GraphPad Prism에 의한 4가지 NMDA 수용체 유형에서의 겐타마이신 CRC 플롯은 도 31에 제시된다. 겐타마이신 CRC는 10 μM 글리신 존재하에서 획득되었다. 데이터는 평균 ± SEM, n=6으로 보고된다.

[0552] 4개의 NMDA 수용체 유형에서 겐타마이신 최적 적합 값은 GraphPad Prism에 의해 계산되었고 도표 38에서 다음과 같이 주어진다:

표 38

[0553] 도표 38

	2A	2B	2C	2D
pEC_{50}	<4	<4	<4	<4
EC_{50}(μg/ml)	>100	>100	>100	>100
최소 반응(%)	-3.3	-3.7	-8.2	-3.2
최대 농도에서의 반응(%)	0.1	0.7	0.03	1.0

[0554] 4. 10 μM 글리신 존재하에서 퀴놀린산 효과 및 덱스트로메타돈과의 상호작용

[0555] 100-1000 μM 퀴놀린산(QA) 효과는 10 μM 글리신의 존재하에서, 4개의 NMDAR 세포 라인을 사용하여 평가되었고, 그 결과를 도 32A 내지 도 32D에 도시된다. 10 μM 덱스트로메타돈(DXT) 첨가도 또한 평가되었다. 도시된 데이터는 각 그룹에 대한 평균 ± SEM, n=42이다.

[0556] 도 32A 내지 도 32D에 도시된 동일한 데이터가 덱스트로메타돈 통계적 결과를 포함하여 아래 도표 39에서 작성된다.

표 39

[0557] 도표 39

	100 QA	100 QA + 10 DXT	1000 QA	1000 QA + 10 DXT
GluN2A	2.5±0.3	-0.2±0.2 (*)	41±1.2	34±0.6 (****)
GluN2B	0.9±0.7	-1.0 ±0.8 (ns)	37±1.3	12±0.7 (****)
GluN2C	-2.8±0.6	-3.3±0.5 (ns)	-5.5±0.4	-8.0±0.4 (*)
GluN2D	-0.1±0.4	-2.4±0.2 (ns)	55±1.1	32±0.9 (****)

[0558] 작성된 데이터는 각 그룹에 대한 평균 ± SEM(P 값), n=42이다. 제목 농도는 마이크로몰 단위이다. 범례: ns, 중요하지 않음; *는 P<0.05; ****는 P<0.0001이다. QA는 퀴놀린산이다. DXT는 덱스트로메타돈 염산염이다.

[0559] 5. 40nM L-글루타메이트 및 10 μM 글리신: 100 μM 퀴놀린산 및/또는 10 μM 덱스트로메타돈의 효과

[0560] 10 μM 글리신의 존재하에서 40nM L-글루타메이트 효과가 평가되었다. 4개의 NMDAR 세포 라인을 사용하여, 100 μM 퀴놀린산(QA) 및/또는 10 μM 덱스트로메타돈(DXT)의 첨가도 또한 평가되었고, 그 결과는 도 33A 내지 도 33D에 도시된다.

[0561] 도 33A 내지 도 33D에 도시된 동일한 데이터가 덱스트로메타돈 통계적 결과를 포함하여 아래 도표 40에서 작성된다.

표 40

[0562] 도표 40

	0.04 L-Glu	0.04 L-Glu + 10 DXT	0.04 L-Glu + 100 QA	0.04 L-Glu + 100 QA + 10 DXT
GluN2A	1.7±0.3	0.5±0.2 (ns)	7.5±0.4	3.4±0.2 (****)
GluN2B	-0.9±0.6	0.2 ±0.4 (ns)	3.7±1.3	1.6±0.3 (ns)
GluN2C	-1.2±0.6	1.6±0.4 (ns)	-2.0±1.1	-2.5±0.7 (ns)
GluN2D	18±1.2	1.6±0.4 (ns)	26±1.2	7.1±0.4 (****)

[0563] 데이터는 각 그룹에 대한 평균 ± SEM(P 값), n=42이다. 제목 농도는 마이크로몰 단위이다. 범례: ns, 중요하지 않음; ****는 P<0.0001이다. L-Glu는 L-글루타메이트이다. DXT는 덱스트로메타돈 염산염이다.

[0564] 6. 40nM L-글루타메이트 및 10 μM 글리신: 1000 μM 퀴놀린산 및/또는 10 μM 덱스트로메타돈의 효과

[0565] 10 μM 글리신의 존재하에서 40nM L-글루타메이트 효과가 평가되었다. 4개의 NMDAR 세포 라인을 사용하여, 1000 μM 퀴놀린산(QA) 및/또는 10 μM 덱스트로메타돈(DXT)의 첨가도 또한 평가되었고, 그 결과는 도 34A 내지 도 34D에 도시된다.

[0566] 도 34A 내지 도 34D에 도시된 동일한 데이터가 덱스트로메타돈 통계적 결과를 포함하여 아래 도표 41에서 작성된다.

표 41

[0567] 도표 41

	0.04 L-Glu	0.04 L-Glu + 10 DXT	0.04 L-Glu + 1000 QA	0.04 L-Glu + 1000 QA + 10 DXT
GluN2A	1.7±0.3	0.5±0.2 (ns)	41±1.0	32±0.7 (****)
GluN2B	0.9±0.6	0.2 ±0.4 (ns)	27±2.2	13±1.0 (****)
GluN2C	-1.2±0.6	1.6±0.4 (ns)	-4.1±0.9	-8.6±1.5 (**)
GluN2D	18±1.2	3.5±0.4 (ns)	53±2.3	33±1.6 (****)

[0568] 데이터는 각 그룹에 대한 평균 ± SEM(P 값), n=42이다. 제목 농도는 마이크로몰 단위이다. 범례: ns, 중요하지 않음; **는 P<0.01; ****는 P<0.0001이다. QA는 퀴놀린산이다. DXT는 덱스트로메타돈 염산염이다.

[0569] 7. 200nM L-글루타메이트 및 10 μM 글리신: 100 μM 퀴놀린산 및/또는 10 μM 덱스트로메타돈의 효과

[0570] 10 μM 글리신의 존재하에서 200nM L-글루타메이트 효과가 평가되었다. 4개의 NMDAR 세포 라인을 사용하여, 100 μM 퀴놀린산(QA) 및/또는 10 μM 덱스트로메타돈(DXT)의 첨가도 또한 평가되었고, 그 결과는 도 35A 내지 도 35D에 도시된다.

[0571] 도 35A 내지 도 35D에 도시된 동일한 데이터가 덱스트로메타돈 통계적 결과를 포함하여 아래 도표 42에서 작성된다.

표 42

[0572] 도표 42

	0.2 L-Glu	0.2 L-Glu + 10 DXT	0.2 L-Glu + 100 QA	0.2 L-Glu + 100 QA + 10 DXT
GluN2A	22±0.7	14±0.4 (****)	26±0.6	15±0.5 (****)
GluN2B	18±1.2	8.0±0.5 (****)	27±0.8	9.9±0.8 (****)
GluN2C	30±1.7	13±0.7 (****)	27±1.1	7.7±0.6 (****)
GluN2D	92±2.0	71±2.3 (****)	93±1.0	69±1.4 (****)

[0573] 데이터는 각 그룹에 대한 평균 ± SEM(P 값), n=42이다. 제목 농도는 마이크로몰 단위이다. 범례: ****는 P<0.0001이다. QA는 퀴놀린산이다. DXT는 덱스트로메타돈 염산염이다.

[0574] 8. 200nM L-글루타메이트 및 10 μM 글리신: 1000 μM 퀴놀린산 및/또는 10 μM 덱스트로메타돈의 효과

[0575] 10 μM 글리신의 존재하에서 200nM L-글루타메이트 효과가 평가되었다. 4개의 NMDAR 세포 라인을 사용하여, 1000 μM 퀴놀린산(QA) 및/또는 10 μM 덱스트로메타돈(DXT)의 첨가도 또한 평가되었고, 그 결과는 도 36A 내지 도 36D에 도시된다.

[0576] 도 36A 내지 도 36D에 도시된 동일한 데이터가 덱스트로메타돈 통계적 결과를 포함하여 아래 도표 43에서 작성된다.

표 43

[0577] 도표 43

	0.2 L-Glu	0.2 L-Glu + 10 DXT	0.2 L-Glu + 1000 QA	0.2 L-Glu + 1000 QA + 10 DXT
GluN2A	22±0.7	14±0.4 (****)	46±0.9	35±1.0 (****)
GluN2B	18±1.2	8.0±0.5 (****)	27±1.5	13±1.0 (****)
GluN2C	30±1.7	13±0.7 (****)	6.6±0.8	-3.8±0.9 (****)
GluN2D	92±2.0	71±2.3 (****)	58±1.6	43±1.1 (****)

[0578] 데이터는 각 그룹에 대한 평균 ± SEM(P 값), n=42이다. 제목 농도는 마이크로몰 단위이다. 범례: ****는 P<0.0001이다. QA는 퀴놀린산이다. DXT는 덱스트로메타돈 염산염이다.

[0579] 9. 1000 μM 퀴놀린산 및 10 μM 글리신: 10 μg/ml 겐타마이신 및/또는 10 μM 덱스트로메타돈의 효과

[0580] 10 μM 글리신의 존재하에서 1000nM 퀴놀린산(QA) 효과가 평가되었다. 4개의 NMDAR 세포 라인을 사용하여, 10g/ml 겐타마이신 및/또는 10 μM 덱스트로메타돈(DXT)의 첨가도 또한 평가되었고, 그 결과는 도 37A 내지 도 37D에 도시된다.

[0581] 도 37A 내지 도 37D에 도시된 동일한 데이터가 DTX 통계를 포함하여 아래 도표 44에서 작성된다.

표 44

[0582] 도표 44

	1000 QA	1000 QA + 10 DXT	1000 QA + 10 GENT	1000 QA + 10 GENT + 10 DXT
GluN2A	41±1.2	34±0.6 (****)	47±1.1	34±0.6 (****)
GluN2B	37±1.3	12±0.7 (****)	37±1.4	21±0.9 (****)
GluN2C	-5.5±0.4	-8.0±0.4 (*)	5.6±0.4	-11±0.9 (****)
GluN2D	55±1.1	32±0.9 (****)	53±1.7	36±0.8 (****)

[0583] 데이터는 각 그룹에 대한 평균 ± SEM(P 값), n=42이다. 제목 농도는 μM(QA 및 DXT) 또는 μg/ml(GENT)이다. 범례:*는 P<0.05; ****는 P<0.0001이다. QA는 퀴놀린산이다. DXT는 덱스트로메타돈 염산염이고, GENT는 겐타마이신 황산염이다.

[0584] I. 논의

[0585] FLIPR 칼슘 분석은 GluN1과 GluN2A, GluN2B, GluN2C 또는 GluN2D 서브유닛 중 하나를 포함하는 이형체 재조합 인간 NMDAR을 발현하는 안정한 세포 라인을 사용하여 시험 항목을 프로파일링하는데 사용되었다.

[0586] 10μM 덱스트로메타돈은 글루타메이트, 퀴놀린산 또는 그들의 조합과 퀴놀린산 + 겐타마이신에 의해 유도된 NMDAR 매개 칼슘 진입을 억제하였다.

[0587] 퀴놀린산은 FLIPR 칼슘 분석에서 이종체 NMDAR을 포함하는 GluN2A, GluN2B, GluN2D에 대해 부분적 작용제 모드 작용을 나타냈다. 퀴놀린산 EC_{50}은 GluN2A, GluN2B 및 GluN2D 세포 라인에서 각각 850, 170 및 520μM을 결과로 제공하였다. 퀴놀린산 1000μM은 대신에 GluN2C 세포 라인에서 0.2μM L-글루타메이트에 의해 유발된 세포내 칼슘 증가를 감소시켰다.

[0588] 퀴놀린산은 10μM 글리신의 존재하에서, 약 100μM에서 시작하여 최대 1000μM까지 GluN2A, GluN2B 및 GluN2D 세포 라인에서 칼슘 진입을 증가시켰다. 낮은 퀴놀린산 농도는 GluN2A, GluN2B 및 GluN2D 세포 라인에서 효과가 없는 것으로 나타났다. 퀴놀린산은 시험된 농도에 GluN2C 세포 라인에서 세포내 칼슘을 증가시키지 않았지만, 이 세포 라인에서 NAM으로 작용하는 것으로 나타났다.

[0589] 칼슘 진입에 대한 퀴놀린산 최대 % 효과는 (평균 ± SEM) 10μM L-글루타메이트와 10μM 글리신에 의해 유발된 100% 효과와 비교하여, GluN2A, GluN2B 및 GluN2D 세포 라인에서 각각, 10μM 글리신의 존재하에서 1000μM에 41±1.1%, 37±1.3%, 및 55±1.1%의 결과로 주어졌다.

[0590] GluN2B 세포 라인에서의 퀴놀린산 CRC는 333μM 및 1000μM 퀴놀린산이 유사한 준최대 칼슘 진입을 유도했기 때문에 (각각 23±3.0 및 25±2.1 %) 부분적 작용제 작용을 시사한다.

[0591] 부분적 작용제 작용은 작용제 농도 및 NMDAR 서브유닛에 따라 L-글루타메이트와의 퀴놀린산 복합 상호작용에 의해 지원된다. 100μM 퀴놀린산은 GluN2A, GluN2B 및 GluN2D 서브유닛에서 0.04μM L-글루타메이트와 양적 상호작용을 나타냈지만, 1000μM 퀴놀린산은 GluN2D 서브유닛에서 0.2μM L-글루타메이트와 음적 상호작용을 나타냈고, 여기서 0.2μM L-글루타메이트만 거의 최대 효율에 도달하였다 (92 ± 2.0%).

[0592] 부가하여, 1000μM 퀴놀린산은 GluN2C 세포 라인에서 0.2μM L-글루타메이트에 의해 유발된 세포내 칼슘 증가를 감소시켰고 (30±1.7%에서 6.6±0.8% 아래로, P<0.0001), 놀랍게도 길항제 역할을 하고, 이후 내용을 참조한다. 0.1, 1, 10μM과 같은 더 낮은 농도에서의 퀴놀린산은 어떠한 세포 라인에서도 반응을 유도하지 않았고, 0.04μM 또는 0.2μM L-글루타메이트, 또는 10μM 겐타마이신에 대해 세포 라인 반응을 조절하지 않았다.

[0593] FLIPR에서 관찰된 퀴놀린산 효과는 전자생리학적 기술을 사용한, GluN2A 또는 GluN2B 함유 이종 NMDA 수용체에 대한 이전 문헌과 일치하여, GluN2A, GluN2B, GluN2D 이종 NMDA 수용체에 대한 부분 작용제 작용과 호환가능하다 (Banke TG, Traynelis SF. NR1/NR2B NMDA 수용체의 활성화 (Activation of NR1/NR2B NMDA receptors). Nat Neurosci. 2003;6(2):144-152; Blanke ML, VanDongen AM. 틈새 스패닝 이황화 결합을 통한 N-메틸-D-아스파테이트 수용체의 구성적 활성화 (Constitutive activation of the N-methyl-D-aspartate receptor via cleft-spanning disulfide bonds). J Biol Chem. 2008;283(31):21519-21529; Kussius 및 Popescu, 2009). Banke 및 Traynelis, 2003은 본 발명자가 보고한 값과 잘 일치하여, 쥐의 GluN1-GluN2B 수용체에 대한 외부 전기생리학적 측정에 의해 518±35μM의 퀴놀린산 효능을 보고하였다. FLIPR에서 퀴놀린산이 GluN1-GluN2C 수용체를 활성화할 수 없다는 것은 De Carvalho 등의 데이터와 일치하고 (De Carvalho LP, Bochet P, Rossier J. 내인성 작용제

퀴놀린산과 비내인성 호모퀴놀린산은 NMDAR2 수용체 서브유닛을 구별한다 (The endogenous agonist quinolinic acid and the non endogenous homoquinolinic acid discriminate between NMDAR2 receptor subunit). Neurochem. Int. 1996; 28:445-452), 이는 쥐 GluN1 및 GluN2C 서브유닛이 주입된 난모세포에서 100 또는 1000 μM 퀴놀린산에 대한 전기생리학적 반응을 나타내지 않는다. FLIPR에 의해 GluN2C 세포 라인에서 0.2 μM L-글루타메이트에 의해 유발된 세포내 칼슘 증가를 감소시키는 1000 μM 퀴놀린산의 능력은 GluN2C 서브유닛의 글루타메이트 결합 부위에 결합하는 능력을 어느 정도 유지하지만, 효능이 0이므로 GluN2C 서브유닛에서 단순히 낮은 효능의 작용제가 아닌 길항제로 작용한다는 것을 제시한다.

[0594] 10 μM 글리신이 존재하지만 글루타메이트의 부재하에서 시험된 겐타마이신은 시험된 모든 세포 라인에서 임의의 시험 농도에 (1.7nM에서 100 μM까지) 칼슘 진입을 유도하지 않았다. 따라서, 겐타마이신, PAM은 (예시 5, 파트 I) NMDAR 글루타메이트 결합 부위에서 작용제 활성이 없는 것으로 나타난다.

[0595] 10 μg/ml 겐타마이신은 GluN2A 세포 라인에서만 1000 μM 퀴놀린산을 약간 강화하였다 (41±1.2%에서 최대 47±1.1%, P<0.0001). 이는 작용제 + PAM 조합의 동시 적용으로부터 강화가 있을 수 있고 덱스트로메타돈이 적어도 GluN2A 아형에서, 작용제 및 PAM의 조합에 의해 유발되는 강화된 Ca^{2+} 전류를 효과적으로 차단할 수 있다는 것을 확인한다.

[0596] 알로스테릭 조절제의 경우, 친화도는 유효 K_B의 크기가 공동 결합 작용제의 유형 및 그 농도에 의존한다는 점에서 조건부일 수 있기 때문에, NMDAR에 대한 겐타마이신 양성 조절 효과가 작용제 의존적이라는 것은 놀라운 것이 아니다 (Kenakin T, Strachan RT. PAM-길항제: 병리학적 수용체 시그널링을 차단하는 더 나은 방법 (PAM-Antagonists: A Better Way to Block Pathological Receptor Signaling). Trends Pharmacol Sci. 2018;39(8):748-765에 의해 보고된 바와 같이).

[0597] 10 μM 덱스트로메타돈은 4개의 모든 세포 라인에서 200nM L-글루타메이트에 의해, 또한 GluN2D 세포 라인에서 40nM L-글루타메이트에 의해 유도된 세포내 Ca^{2+} 유입을 현저하게 감소시키는 능력을 확인하였다 (본 예시 5의 파트 I을 또한 참조).

[0598] 10 μM 덱스트로메타돈은 또한 충분히 높은 세포내 칼슘 수준을 유발하는 퀴놀린산과 글루타메이트 또는 겐타마이신의 조합에 의해서 뿐만 아니라, GluN2A, GluN2B 및 GluN2D 세포 라인에서 333 및 1000 μM 퀴놀린산에 의해 증가된 세포내 Ca^{2+} 유입을 감소시켰다. 덱스트로메타돈의 이러한 활성 패턴은 충분한 양의 Ca^{2+} 유입이 유도될 때, l-글루타메이트, 글루타메이트 부위의 다른 작용제와 PAM 및 그들의 조합에 의해 유발되는 Ca^{2+} 유입을 감소시키는데 효과적인 비경쟁 채널 차단제로서의 활성을 확인한다.

[0599] Braidy 등은 (Braidy N, Grant R, Adams S, Brew BJ, Guillemin GJ. 인간 성상교세포 및 뉴런에서 퀴놀린산 세포독성에 대한 메카니즘 (Mechanism for quinolinic acid cytotoxicity in human astrocytes and neurons). Neurotox Res. 2009;16(1):77-86) 성상교세포와 뉴런의 다양한 매개변수에 대한 퀴놀린산의 서브마이크로몰 효과를 [덱스트로메타돈과 유사하지만 더 강력한 비경쟁 활성을 갖는 개방 채널 차단제인 MK-801에 의해 억제되는 (예시 1을 참조)] 설명한다: 세포내 니코틴아미드 아데닌 디뉴클레오티드(NAD^+) 및 폴리(ADP-리보스) 중합효소 (PARP) 수준; 세포외 젖산 탈수소효소(LDH) 수준; 성상교세포와 뉴런에서 각각의 iNOS 및 nNOS 발현 수준.

[0600] GluN2A, GluN2B, GluN2D 및 GluN2C 세포 라인을 시험한 본 발명자의 결과는 100 μM 미만의 농도에서 퀴놀린산의 효과를 나타내지 않는다. 본 발명자는 Braidy 등, 2009에 의해 연구된 퀴놀린산의 서브마이크로몰 농도에 민감한 배양된 인간 성상교세포 및 뉴런이 GluN3A 및 GluN3B 서브유닛을 포함하는 아형과 같이 (예를 들면, 삼중-이성질체 NR1-NR2A 또는 B 또는 C 또는 D-NR2A 또는 B), 퀴놀린산에 더 민감할 수 있는 서브유닛 조합으로 NMDAR 아형을 발현한다고 가정한다. GluN3A 및 GluN3B 서브유닛을 포함하는 NMDAR은 성상교세포에 존재하는 것으로 나타난다 (Skowronska K, Obara-Michlewska M, Zielinska M, Albrecht J. 성상교세포의 NMDA 수용체: 신경전달 및 성상교세포 항상성의 역할 검색 (NMDA Receptors in Astrocytes: In Search for Roles in Neurotransmission and Astrocytic Homeostasis). Int J Mol Sci. 2019;20(2):309).

[0601] 흥미롭게, GluN3A 서브유닛은 퀴놀린산 뇌 주사에 의해 모방되는 헌팅턴병(HD) 병태생리학의 핵심으로 간주된다. 퀴놀린산 신경독성은 HD의 신경화학적 특성을 복제하는 것으로 잘 알려져 있다 (Beal MF, Kowall NW, Ellison DW, Mazurek MF, Swartz KJ, Martin JB. 퀴놀린산에 의한 헌팅턴병의 신경화학적 특성 복제 (Replication of the neurochemical characteristics of Huntington's disease by quinolinic acid). Nature.

1986;321(6066):168-171). GluN3A-수용체 발현은 두 헌팅턴병(HD) 동물 모델에서 뿐만 아니라 (돌연변이 헌팅틴에 의한 PACSIN 어댑터 단백질 격리로 인해), 인간 HD 환자의 선조체 조직에서도 (Mackay JP, Nassrallah WB, Raymond LA. 원인 또는 보상-헌팅턴병에서 신경 세포 Ca2+ 처리 변경 (Cause or compensation-Altered neuronal Ca2+ handling in Huntington's disease). CNS Neurosci Ther. 2018;24(4):301-310) 향상되었고, HD 모델에서 비정상적인 GluN3A 발현을 억제하여 시냅스 및 행동 장애를 구제했다 (Marco S, Giralt A, Petrovic MM 등. 비정상적인 GluN3A 발현을 억제하면 헌팅턴병 모델에서 시냅스 및 행동 장애를 구제한다 (Suppressing aberrant GluN3A expression rescues synaptic and behavioral impairments in Huntington's disease models). Nat Med. 2013;19(8):1030-1038). 그러므로, 본 발명자의 결과를 기반으로, 퀴놀린산은 NMDAR을 포함하는 GluN3A를 우선적으로 표적화할 수 있다.

[0602] Koch 등, 2019는 7.2mM 퀴놀린산이 난모세포에서 GluN1-GluN3B 아형을 활성화할 수 있다고 보고하였다 (Koch A, Bonus M, Gohlke H, Klocker N. 담즙 염에 의한 N-메틸-D-아스파테이트 수용체의 이소폼 특이적 억제 (Isoform-specific Inhibition of N-methyl-D-aspartate Receptors by Bile Salts). Sci Rep. 2019 Jul 11;9(1):10068). 퀴놀린산은 FLIPR 연구에 의해 확인된 바와 같이, 글루타메이트 결합 부위에서 NMDAR 부분 작용제로 간주되므로, Koch 등에 의한 결과는 GluN1-GluN3B 아형에 존재하는 두 서브유닛 모두 글리신 결합 부위만 포함한다는 가정과 대조되는 것으로 나타난다.

[0603] NMDAR을 포함하는 GluN3의 약리학은 고전적인 글리신 부위 길항제가 (예를 들면, 7-CKA 또는 CGP-78608) 대신에 GluN1-GluN3A 수용체에서 글리신 흥분 역할을 마스킹하지 않을 수 있음을 나타내는 최근 논문에서 예시된 바와 같이 (Grand T, Abi Gerges S, David M, Diana MA, Paoletti P. GluN1/GluN3A 흥분성 글리신 NMDA 수용체의 마스킹 해제 (Unmasking GluN1/GluN3A excitatory glycine NMDA receptors). Nat Commun. 2018;9(1):4769), 초기 단계에 있다.

[0604] 예시 10과 (이후의) 관련하여, 선택된 성상교세포 집단이 (예를 들면, CA1 해마 영역에 있는 집단) MOR을 고도로 발현한다는 점에 주목하는 것이 흥미롭다 (Nam 등, 2018). 이러한 MOR은 성상교세포 글루타메이트 방출 및 기억 형성에서 중심 역할을 하는 것으로 생각된다 (Nam 등, 2019). 세포외 글루타메이트 항상성에서의 성상교세포 역할은 잘 인식되지 않았고, 성상교세포 유도 글루타메이트는 억제 시냅스 전달의 NMDAR 매개 강화에 핵심일 뿐만 아니라 (Kang J, Jiang L, Goldman SA, Nedergaard M. 억제 시냅스 전달의 성상 세포 매개 강화 (Astrocyte-mediated potentiation of inhibitory synaptic transmission). Nat Neurosci. 1998;1(8):683-692), NMDAR 매개 신경의 느린 내부 전류(SIC) 및 LTD에 핵심이 된다 (Fellin T, Pascual O, Gobbo S, Pozzan T, Haydon PG, Carmignoto G. 시냅스 외 NMDA 수용체의 활성화를 통해 성상교세포 글루타메이트에 의해 매개되는 뉴런 동기화 (Neuronal synchrony mediated by astrocytic glutamate through activation of extrasynaptic NMDA receptors) [published correction appears in Neuron. 2005 Jan 6;45(1):177]. Neuron. 2004;43(5):729-743; Navarrete et al., 2019).

[0605] 예시 10 개시를 확증하여, 선택된 성상교세포 집단의 막에서 발현된 구조적으로 연관되고 물리적으로 결합된 NMDAR-MOR에 대한 덱스트로메타돈에 의한 우선적인 표적화는 (쉐퍼딩 친화도) 세포외 글루타메이트 수준의 균형 제어를 매개함으로서 덱스트로메타돈의 항우울 메카니즘에 기여할 수 있다.

[0606] J. 예시 5의 파트 I 및 II를 기반으로 하는 결론

[0607] 본 예시 5에서 본 발명자의 연구를 기반으로 하는 결론은 다음과 같다: 첫번째로, 많은 양의 (mM 농도) 시냅스 전 글루타메이트 방출은 (생리학적 자극 유도 방출) 기능적 EAAT 시스템에 의해 빠르게 제거될 때 흥분독성이 아니고 (생리학적 신경 전달), NMDAR의 강장제 과활성화를 (강장제 및 병리학적) 초래하는 적은 양은 (낮은 nM 범위) LTP 중단과 세포 손상 및 세포 손실과 함께 선택된 세포에서 과도한 Ca^{2+} 유입 및 만성 저등급 흥분독성을 유발할 수 있다.

[0608] 두번째로, 덱스트로메타돈은 독성 PAM의 (이 경우에는 겐타마이신) 존재 및 부재 모두에서, 40nM의 낮은 농도에서도 모든 수준의 글루타메이트 농도에서 Ca^{2+} 유입을 하향조절할 수 있었다.

[0609] 세번째로, 시험된 매우 낮은 농도의 글루타메이트는 선택 세포에서 강장제 및 병리학적 농도를 나타낼 수 있고 시간이 지남에 따라 연장될 때 선택 세포에 대해 과도한 Ca^{2+} 유입을 유발할 수 있다.

[0610] 네번째로, 시험된 매우 낮은 농도의 글루타메이트는 예를 들어, MDD의 발병기전에 관여하는 mPFC로 투사되는 억제성 개재뉴런, 또는 다른 신경정신 장애의 발병기전에 관여하는 다른 개재뉴런과 같은, 개재뉴런의 강장제 자

극을 결정할 수 있는 강장제 농도를 나타낼 수 있다.

[0611] 다섯번째로, Ca^{2+} 유입에 대한 강장제 저농도의 글루타메이트의 효과는 겐타마이신에서 볼 수 있는 바와 같이, PAM에 의해 향상될 수 있다.

[0612] 여섯번째로, 낮은 농도의 (낮은 nM 범위) 시냅스전 글루타메이트에 대한 과도한 (병리학적) 노출은 연속적인 시냅스 전 탈분극 현상으로 (예를 들면, eEPSC) 인해 발생되거나, 심지어 자발적으로 (예를 들면, mEPSC) 또한/또는 예를 들어 EAAT에서의 결함과 같이, 시냅스 틈으로부터의 결함 클리어런스에 의해 발생될 수 있다.

[0613] 일곱번째로, 덱스트로메타돈의 질병-조절 효과는 과도한 Ca^{2+} 유입의 원인과 관계없이 수행될 수 있다: 1) 과도한 시냅스 전 방출 (지속적인 과도한 "저농도" 글루타메이트), 2) 시냅스 후 향상 (매우 낮은 농도의 주변 시냅스 글루타메이트의 효과를 향상시키는 NMDAR에서의 독성 PAM 또는 작용제), 3) 글루타메이트에 대한 시냅스 틈새 결함 클리어런스 (EAAT 결함).

[0614] 여덟번째로, 예시 1, 2, 3, 6, 7, 9 및 10은 첫번째 내지 일곱번째 결론과 함께 (상기의), 동역학이 비정상적일 때 덱스트로메타돈이 선택된 NMDAR 채널을 선택적으로 표적화할 수 있음을 시사한다: 덱스트로메타돈은 (예시 6을 참조, 덱스트로메타돈 작용에 대한 "on" 동역학) 선택된 세포에서의 NMDAR이 너무 오래 또는 너무 넓게 개방 상태로 유지되고 (과활성) 과도한 Ca^{2+} 유입을 초래할 때만 채널을 차단한다.

[0615] 아홉번째로, 메타돈의 NMDAR 채널 차단의 실질적으로 유용한 "on", "off" 동역학: MDD에 대한 유효 용량에서 위약과 비교가능한 (예시 3, MDD), 덱스트로메타돈의 부작용 프로파일은 병리학적 과활성 (너무 오랜 시간 과활성화된) NMDAR만을 차단하기에 선택적인 덱스트로메타돈의 "on" 동역학이 (상기 8번 항목) 유용한 것 뿐만 아니라, "off" 동역학이 생리학적 NMDAR 활동을 방해하고 부작용을 일으키는 (예를 들면, 더 강력한 NMDAR 채널 차단제인 케타민에서 볼 수 있는 이인화/해리 효과) 장기간의 완전한 차단을 일으키지 않고 NMDAR 활동의 재개를 허용하게 하는 것을 시사한다.

[0616] 덱스트로메타돈에 대한 "on", "off" 및 "트래핑"의 특성화는 예시 6, 파트 I 및 파트 II에 자세히 설명된다.

[0617] 전기생리학 on-/off- 속도 분석은 GluN1/GluN2C NMDAR 세포 라인에서 10/10 μM L-글루타메이트/글리신 유도 전체-세포 전류의 차단과 관련하여, 시험 항목 온셋(nset) 및 오프셋(offset) 동역학을 설정하도록 설계되었다. 10 μM 덱스트로메타돈 온셋 및 오프셋 동역학 매개변수 타우-온(tau-on) 및 타우-오프(tau-off)는 각각 46.4초 및 174초로 주어졌다. 1 μM(±)-케타민 (덱스트로메타돈 농도의 1/10) 타우-온 및 타우-오프는 각각 47.1초 및 151초로 주어졌고, 이는 예시 1 결과에 의해 확증된, 덱스트로메타돈과 비교하여 효능 x10을 시사한다.

[0618] 전기생리학 분석은 GluN1-GluN2C NMDAR 세포 라인에서 10/10 μM L-글루타메이트/글리신 유도 전체-세포 전류의 차단과 관련하여, 시험 항목 "트래핑"을 설정하도록 설계되었다. 덱스트로메타돈 및 (±)-케타민이 시험 항목으로 선택되었다. 덱스트로메타돈 "트래핑" 결과는 85.9%로 주어졌다. (±)-케타민 "트래핑" 결과는 86.7%로 주어졌다.

[0619] 상기의 새롭고 예상치 못한 발견 및 예시 1 결과와의 그들의 상관관계, 특히 K_B 도표(도표 28)에 예시된 결과, 보다 구체적으로 도표 28의 GluN1-GluN2C 컬럼에 예시된 결과, 또한 분석에서 시험된 다른 약물에 대한 문헌에서 이용가능한 MDD 효능과 안전성 및 PK 매개변수와의 상관관계를 기반으로, 본 발명자는 휴지기 막 전위 상태에서 생리학적 Mg^{2+} 농도의 존재하에서도 Ca^{2+} 투과성을 감소시킬 수 있는 임상적으로 내약성이 있고 MDD 효과적인 NMDAR 채널 차단제가 다음의 특성을 가져야 함을 개시한다: 1) GluN1-GluN2C 아형에서 낮은 효능 (낮은 마이크로몰) [덱스트로메타돈의 효능은 케타민에 비해 1/10이다 (나노몰): 예시 1 (K_B 도표, 도표 28) 및 예시 6A ("on" 및 "off")]; 2) 상대적으로 높은 "트래핑": MK-801 보다 낮고 PCP 보다 낮지만 케타민과 비교가능하고 메만틴 보다 높다 (메만틴은 MDD에 효과적이지 않다).

[0620] 요약하면, MDD 지표에 실질적으로 유용한 NMDAR 채널 차단제의 특성은 다음과 같다: GluN1-GluN2C 및 GluN2D 아형에 대해 낮은 마이크로몰 우선 친화성을 갖는 소분자 (1-12 마이크로몰); 80-90% "트래핑"; 다음의 "온셋" 및 "오프셋" 동역학 계수: 타우-온 및 타우-오프: 각각 40-50초 및 145-180초; 뮤 아편유사제(mu opioid) 수용체에 대한 낮은 친화도 (예시 10) (예를 들면, 모르핀에 비해 1/10 이하).

[0621] **예시 6**

[0622] 개요: 본 예시 6은 MDD에 효과적인 NMDAR 채널 차단제의 특성을 입증한다: (1) 느린 온셋 (낮은 효능): 매우 빨

라서 느린 온셋의 영향을 받지 않는 위상 생리학적 NMDAR 활성화를 방해하지 않도록; (2) 상대적으로 높은 트래핑: 약물이 채널에 머물러 있어 강장적 및 병리학적 개방 채널의 꾸준한 차단을 수행하도록.

[0623] **파트 I: GluN1/Glu2C NMDAR에 대한 전기생리학 On-/Off- 속도 분석**

[0624] A. 개요

[0625] 본 예시 6의 파트 I에서, 덱스트로메타돈 및 (±)-케타민은 GluN2C 서브유닛을 포함하는 재조합 이형체 인간 NMDAR에 대한 그의 온셋 및 오프셋 동역학을 평가하기 위해, 수동 패치 클램프에서 평가되었다.

[0626] 1. 방법

[0627] 수동 패치 클램프 기록은 -70mV에서 발생되었다. 세포는 Mg^{2+}의 부재하에서 10/10 μM L-글루타메이트/글리신에 5초 동안 노출된 다음, L-글루타메이트/글리신과 시험 항목을 30초 동시-적용하고 L-글루타메이트/글리신에 50초 동안 재노출되었다. 타우-온 및 타우-오프는 1차 지수 방정식에 대한 곡선 피팅에 의해 추정되었다.

[0628] 2. 결과

[0629] 10 μM 덱스트로메타돈 및 1 μM (±)-케타민은 유사한 74.6%±1.9% (n = 12) 및 74.6%±2.2% (n = 3) NMDAR 전류 차단을 생성한 반면, 10 μM (±)-케타민은 97.2%±0.3% (n = 3)의 차단을 결과로 생성하였다.

[0630] 타우-온은 10 μM 덱스트로메타돈 및 1 μM (±)-케타민에 대해 각각 46.4 (n = 11) 및 47.1 (n = 10)를 생성하였다. 10 μM (±)-케타민 타우-온은 9.9초 (n = 4)로 감소하였다.

[0631] 10 μM 덱스트로메타돈의 오프셋 동역학은 (173.5초, n = 11) 1 및 10 μM (±)-케타민 모두와 유사하게 주어졌다 (각각 151.0, n = 10 및 163.2, n = 4).

[0632] 3. 결론

[0633] (±)-케타민에 대한 덱스트로메타돈의 더 낮은 효능은 덱스트로메타돈의 더 느린 온셋 동역학 때문이고, 이는 NMDAR에서의 덱스트로메타돈 작용이 주변 L-글루타메이트 및 단계적으로 활성화된 NMDAR의 잠재적 절약에 의해 활성화됨을 제시한다.

[0634] B. 요약

[0635] 전기생리학 on-/off- 속도 분석은 GluN1/GluN2C NMDAR 세포 라인에서 10/10 μM L-글루타메이트/글리신 유도 전체-세포 전류의 차단과 관련하여, 시험 항목 온셋 및 오프셋 동역학을 설정하도록 설계되었다.

[0636] 덱스트로메타돈과 (±)-케타민이 시험 항목으로 선택되었다. 10 μM 덱스트로메타돈은 GluN1/GluN2C 매개 전류의 75% 억제를 생성한 반면, 10, 3, 1 및 0.3 μM (±)-케타민은 각각 97%, 90%, 75% 및 44% 억제를 생성하였다. 그래서, 덱스트로메타돈 및 (±)-케타민의 경우 각각 10 및 1 μM인 유사한 효과를 나타내는 농도에서 시험 항목을 사용하여 두 항목의 동역학 매개변수가 평가되었다.

[0637] 10 μM 덱스트로메타돈 온셋 및 오프셋 동역학 매개변수 타우-온 및 타우-오프는 각각 46.4초 및 174초로 주어졌다. 1 μM (±)-케타민 타우-온 및 타우-오프는 각각 47.1초 및 151초로 주어졌다.

[0638] 마지막으로, 세포외 용액이 아니라, 세포내 용액에 첨가된 10 μM 덱스트로메타돈은 10/10 μM L-글루타메이트/글리신 유도 전류를 억제할 수 없었다.

[0639] 본 예시에서는 데이터에 대해 다음 목록의 약자가 사용된다.

[0640]

약자	정의 또는 확장 용
CHO	중국 햄스터 난소(Chinese hamster ovary)
Gly	글리신(Glycine)
GLP	좋은 실험실 관행(Good laboratory practice)
L-glu	L-글루타메이트(L-glutamate)
MW	분자 무게(Molecular weight)
NA	이용가능하지 않음(Not available)
NMDA	N-메틸-D-아스파테이트(N-methyl-D-aspartate)
NMDAR	N-메틸-D-아스파테이트 수용체(N-methyl-D-aspartate receptor)
OECD	경제 협력 개발기구(Organisation for economic co-operation and development)
QC	품질 제어(Quality control)
s	초(seconds)
SEM	평균의 표준 오차(Standard error of the mean)
SOP	표준 작동 과정(Standard operating procedure)

[0641] 전기생리학 수동 패치 클램프 방법을 사용하여 덱스트로메타돈 및 (±)-케타민에 대한 on-/off- 속도 분석을 설정하였다. 시험 항목 온셋 및 오프셋 동역학은 GluN1/GluN2C NMDAR 세포 라인에서 10/10 μM L-글루타메이트/글리신 유도 전체-세포 전류의 차단과 관련하여 조사되었다.

[0642] 덱스트로메타돈 세포내 적용 효과도 또한 평가되었다.

[0643] 시험 항목은 아래 도표 45에 도시된다.

표 45

[0644] 도표 45

명칭	MW	공급자	코드	CAS
덱스트로메타돈 염산염	345.91	Padova University	NA	5653-80-5 (base)
(±)-케타민 염산염	274.19	Merck Sigma-Aldrich	K2753	1867-66-9
L-글루타메이트	187.1	Merck Sigma-Aldrich	G1626	142-47-2 (anhydrous)
글리신	75.07	Merck Sigma-Aldrich	G7403	56-40-6

[0645] 시험 항목은 적당한 농도로 H_2O에 용해된 후, 사용할 때까지 -20° C에서 보관된다.

[0646] 스톡 농도는 다음과 같다: 덱스트로메타돈의 경우 100mM = 10mg/289 μl; (±)-케타민의 경우 100mM = 10mg/365 μl; L-글루타민산의 경우 1M = 100mg/534 μl; 글리신의 경우 1M = 100 mg/1332 μl.

[0647] C. 시험 시스템

[0648] 시험 항목은 BioLogic RSC-160 관류 장치와 결합된 HEKA Elektronik Patchmaster 시스템을 사용하여, 수동 패치 클램프 전체-세포 기록 방법으로 평가되었다 (BioLogic, Seyssinet-Pariset, 프랑스). 이종체 인간 GluN1/GluN2C NMDA 수용체를 발현하는 CHO 세포 라인이 이 연구에서 사용되었다.

[0649] D. 실험 설계

[0650] 덱스트로메타돈 및 (±)-케타민의 on-/off- 속도는 Mealing GA 등, 2001에 설명된 바와 같이, hGluN1/hGluN2C 이종체 수용체를 발현하는 NMDAR 세포 라인을 사용하여 전기생리학 수동 패치 과정에 의해 측정되었다.

[0651] hGluN1/hGluN2C 수용체를 차단하는 덱스트로메타돈의 능력은 또한 세포내로 첨가될 때도 평가되었다.

[0652] E. 방법 및 과정

[0653] 폴리-D-리신으로 코팅된 유리 커버슬립 상에서 성장한 hGluN1/hGluN2C-CHO 세포가 수동 패치 클램프 전체 세포

기록에 의해 연구되었다. 패치 클램프 기록을 위한 세포외 및 세포내 용액은 다음과 같은 구성을 가졌다:

[0654] (1) 세포내 용액 (mM으로): 80 CsF, 50 CsCl, 0.5 $CaCl_2$, 10 HEPES, 11 EGTA, CsOH로 pH 7.25로 조정됨; 및

[0655] (2) 세포외 용액 (mM으로): 155 NaCl, 3 KCl, 1.5 $CaCl_2$, 10 HEPES, 10 D-글루코스, NaOH로 pH 7.4로 조정됨.

[0656] 기록은 유지 전위와 동일한 -70mV 고정 전압에서 발생하였다.

[0657] hGluN1/hGluN2C-CHO 세포는 도 39에 도시된 바와 같이, 5초 동안 10/10 μM L-글루타메이트/글리신에 노출되고, 이어서 L-글루타메이트/글리신과 시험 항목을 30초 동안 동시-적용하고, 50초 동안 L-글루타메이트/글리신에 재노출시켰다.

[0658] 시험 항목 on-/off- 속도는 유도된 전류 차단의 발달, 또는 그로부터의 경감에 피팅된 곡선에 의해 측정되었다.

[0659] F. 데이터 처리 및 분석

[0660] 최소 n = 10개의 독립적인 세포가 분석되었다. 각 셀에 대해, 10 μM 글리신만 존재할 때의 전류는 0%로 설정되었고, 5초 적용 이후 10 μM L-글루타메이트 및 10 μM 글리신에 의해 유도된 정상 상태 전류는 100%로 설정되었다. 글루타메이트 유도 전류의 시험 항목 억제의 온셋(타우-온, 초) 및 오프셋(타우-오프, 초)의 시간 상수는 아래와 같이 1차 지수 방정식을 사용하여 계산되었다:

$$I(t) = I_1 + (I_0 - I_1) \times e^{-t/\tau on}$$

[0661]

[0662] 시험 항목 오프셋에 대한 1차 방정식:

[0663] $$I(t) = I_1 + (I_2 - I_1) \times (1 - e^{-t/\tau off})$$

[0664] 여기서, I(t)는 시간 t에서 전류이고; t는 각각 온셋 또는 오프셋 방정식에서 시험 항목 적용 또는 제거 이후의 시간(초)이고; I_0는 10 μM L-글루타메이트 및 10 μM 글리신의 5초 적용 이후 및 시험 항목 적용 이전의 전류이고; I_1은 10 μM L-글루타메이트 및 10 μM 글리신의 존재하에서 시험 항목의 30초 적용 이후의 전류이고; I_2는 10 μM L-글루타메이트 및 10 μM 글리신이 지속적으로 존재하는 상태에서 시험 항목을 50초 동안 제거한 이후의 전류이고; τon(일명 타우-온)은 온셋의 시간 상수(초)이고; 또한 τoff(일명 타우-오프)는 오프셋의 시간 상수(초)이다.

[0665] G. 결과

[0666] 1. 시험 항목 % 전류 차단

[0667] 10 μM 덱스트로메타돈에 의해 생성된 차단이 초기에 결정되었다. 10 μM 덱스트로메타돈은 hGluN1/hGluN2C-CHO 세포에서 74.6%±1.9% (n = 12)의 10/10 μM L-글루타메이트/글리신 유도 전류의 차단을 생성하였다. 이어서, (±)-케타민 효과가 연구되었고 그 결과로 각각 10, 3, 1 및 0.3 μM에서 97.2%±0.3% (n = 3), 89.7%±0.6% (n = 3), 74.6%±2.2% (n = 3) 및 44.2%±3.0% (n = 7)의 차단이 주어졌다. 10 μM 덱스트로메타돈 또는 다양한 농도의 (±)-케타민의 존재하에서 잔류 % 전류의 그래프 및 상대적인 데이터 도표는 도 40에서 보고된다. 도 40의 그래프에서 보고된 것과 동일한 데이터가 아래 도표 46에 작성된다:

표 46

[0668] 도표 46

시험 항목		% 전류(평균 ± SEM)	N
제어		100	28
10 μM 덱스트로메타돈		74.6 ± 1.9	12
10 μM (±)-케타민		97.2 ± 0.3	3
3 μM (±)-케타민		89.7 ± 0.6	3
1 μM (±)-케타민		74.6 ± 2.2	3
0.3 μM (±)-케타민		44.2 ± 3.0	7

[0669] 제어 전류(100%)는 10/10 μM L-글루타메이트/글리신에 의해 유도되었고, 결과로, -594.2±103.7 pA (평균 ±

SEM, n = 28)를 제공하였다.

[0670] 10/10 μM L-글루타메이트/글리신 단독 또는 10 μM 덱스트로메타돈 또는 1 μM (±)-케타민과 함께 첨가된 hGluN1/hGluN2C-CHO 세포의 샘플 트레이스는 도 41에서 보고된다.

[0671] 2. 시험 항목 온셋 및 오프셋 동역학

[0672] 유사한 % 차단을 유도하는 시험 항목 농도가 비교가능한 동역학 데이터를 생성하는데 사용되기 때문에 (Mealing 등, 2001), 10 μM 덱스트로메타돈 및 1 μM (±)-케타민이 타우-온 및 타우-오프 실험에서 시험되었다.

[0673] 동역학 실험에서 시험 항목으로 획득된 일반적인 트레이스는 도 42에 보고된다. 10 μM 덱스트로메타돈은 결과로 각각 46.4초 및 173.5초의 타우-온 및 타우-오프를 나타냈다. 1 μM(±)-케타민은 결과로 각각 47.1초 및 151.0초의 타우-온 및 타우-오프를 나타냈다. 온셋 매개변수 추정에 사용되는 10/10 μM L-글루타메이트/글리신의 지속적인 존재하에서 시험 항목 추가 이후 평균 % 전류의 시간 경과는 단일 트레이스 피팅으로부터 유도된 평균 타우 값에 대해 수행된, 10 μM 덱스트로메타돈 및 1 μM (±)-케타민 효과의 비교 및 통계 분석과 함께, 도 43에 보고된다 (10 μM 덱스트로메타돈 및 1 μM (±)-케타민의 경우 각각 46.7±2.1초 및 47.3±1.4 초).

[0674] 도 43에서, 트레이스는 10 μM 덱스트로메타돈 (가운데 선; 회색 음영), 10 μM (±)-케타민 (하단 선; 검은색 음영) 및 1 μM (±)-케타민 (상단 선, 밝은 회색 음영)에 대해 기록된 % 전류를 나타내고, 내부 검은색 선은 상대적인 피팅이다.

[0675] 다음의 식은 피팅에 사용되었다:

$$I(t) = I_1 + (I_0 - I_1) \times e^{-t/\tau on}$$

[0676]

[0677] 피팅 데이터 결과는 아래 도표 47에서 보고된다:

표 47

[0678] 도표 47

시험 항목	타우-온(초)	I_0 (% 전류)	I_1 (% 전류)	N
10 μM 덱스트로메타돈	6.4	100 (제한된)	20.4	11
1 μM (±)-케타민	47.1	100 (제한된)	28.7	10
10 μM (±)-케타민	9.9	100 (제한된)	3.6	4

[0679] 도 44는 10 μM 덱스트로메타돈 (좌측 컬럼) 및 1 μM (±)-케타민 (우측 컬럼) 실험의 타우-온 비교를 도시한다: 오프셋 매개변수 추정에 사용되는, 10/10 μM L-글루타메이트/글리신의 지속적인 존재하에서, 시험 항목 제거 이후 평균 % 전류의 시간 경과는 단일 트레이스 피팅으로부터 유도된 평균 타우 값에 대해 수행된, 10 μM 덱스트로메타돈 및 1 μM (±)-케타민 효과의 비교 및 통계 분석과 함께, 도 45에 보고된다 (10 μM 덱스트로메타돈 및 1 μM (±)-케타민의 경우 각각 176.5±10.5초 및 151.7±6.3초). 도 45에서, 트레이스는 10 μM 덱스트로메타돈 (회색 음영), 1 μM (±)-케타민 (검정색 음영) 및 10 μM (±)-케타민 (밝은 회색 음영)에 대해 기록된 % 전류를 나타내고, 내부 검은색 선은 상대적인 피팅이다.

[0680] 다음의 식은 피팅에 사용되었다:

$$I(t) = I_1 + (I_2 - I_1) \times (1 - e^{-t/\tau off})$$

[0681]

[0682] 피팅 데이터 결과는 아래 도표 48에서 보고된다:

표 48

[0683] 도표 48

시험 항목	타우-오프(초)	I_0 (% 전류)	I_1 (% 전류)	N
10 μM 덱스트로메타돈	173.5	21.7	98.5	11
1 μM (±)-케타민	151.0	28.5	95.5	10
10 μM (±)-케타민	163.2	4.9	102.9	4

[0684] 10μM 덱스트로메타돈 (도 46의 좌측 컬럼) 및 1μM (±)-케타민 (도 46의 우측 컬럼) 실험의 타우-오프 비교는 도 46에 도시된다.

[0685] 기록된 느린 시험 항목 동역학 효과가 실험적 제약으로 인한 것이 아님을 확인하기 위해, 온셋 동역학에 대한 10μM (±)-케타민 효과도 또한 시험되었다. 10μM (±)-케타민은 결과로 9.9초의 타우-온을 제공하였고, 이는 실험 설정에 의해 빠른 동역학이 기록될 수 있는 반면 타우-오프가 결과로 163.2초를 제공하였음을 나타낸다.

[0686] 3. 덱스트로메타돈 세포내 적용

[0687] 덱스트로메타돈의 가능한 세포내 효과를 평가할 목적으로, 10μM 시험 항목이 세포내 용액에 추가되었고, 이러한 조건에서 10/10μM L-글루타메이트/글리신 유도 전류가 대조군과 비교되었다. 세포내 10μM 덱스트로메타돈의 존재하에서 전류 진폭은 대조군 조건에서 -647.5±215.5 (n = 12) pA와 비교하여 -752.1±240.5 (n = 7) pA이었다. 이 두 값의 차이는 의미가 있지 않다 (P > 0.05, 짝지어지지 않은 t-테스트). 추가 증거로서, 10μM 덱스트로메타돈에 의한 10/10μM L-글루타메이트/글리신 유도 전류의 억제량은 세포내 10μM 시험 항목의 존재하에서 증가되지 않는다. 두 실험은 모두 도 47 및 도 48에서 보고되고, 도 47은 세포내 덱스트로메타돈이 10/10μM L-글루타메이트/글리신 유도 전류를 조절하지 않음을 나타내고, 도 48은 세포내 덱스트로메타돈이 세포외 덱스트로메타돈에 의한 전류 차단을 증가시키지 않음을 나타낸다. 보다 구체적으로, 도 47은 대조 조건에서 (좌측 컬럼, n=12) 또한 10μM 세포내 덱스트로메타돈 존재하에서 (우측 컬럼, n=7) 10/10μM L-글루타메이트/글리신 유도 전류의 그래프이다. 그리고, 도 48은 10μM 세포내 덱스트로메타돈의 존재하에서 (중앙 컬럼, n=12) 또한 부재하에서 (우측 컬럼, n=7) 10/10μM L-글루타메이트/글리신 유도 전류에 대해 정규화된 10μM 덱스트로메타돈의 효과를 나타내는 그래프이다.

[0688] H. 논의

[0689] 10μM 덱스트로메타돈 및 1μM (±)-케타민은 hGluN1/hGluN2C-CHO 세포에서 10/10μM L-글루타메이트/글리신 유도 전류의 유사한 % 억제를 유도하였다. 이 결과는 hGluN1/hGluN2C NMDAR에 대한 덱스트로메타돈과 관련하여 (±)-케타민의 거의 10배 더 높은 효능을 보여주는 이전의 FLIPR 연구(예시 1)와 일치한다.

[0690] 두 시험 항목의 온셋 동역학은 유사한 % 차단을 유도하는 시험 항목 농도를 비교할 때 매우 유사한 결과를 생성하였고, 이는 각각 덱스트로메타돈 및 (±)-케타민에 대해 10 및 1μM이었다. 실제로, 타우-온은 각각 10μM 덱스트로메타돈 및 1μM (±)-케타민에 대해 46.4초 및 47.1초이었다. 타우-온은 타우-오프와 달리 농도 의존적이기 때문에, 10μM (±)-케타민 타우-온은 예상대로 9.9초이었다.

[0691] 또한, 10μM 덱스트로메타돈(173.5초)의 오프셋 동역학은 1 및 10μM (±)-케타민(각각 151.0 및 163.2초)과 유사한 결과를 생성하였다.

[0692] 기록된 데이터는 덱스트로메타돈과 비교하여 (±)-케타민의 10배 더 높은 효능이 현저하게 다른 오프셋 동역학 없이 동일한 덱스트로메타돈 농도에서 테스트할 때, (±)-케타민의 더 빠른 온셋 동역학으로 인한 것임을 시사한다.

[0693] I. 결론

[0694] 10μM 덱스트로메타돈 및 10μM (±)-케타민은 hGluN1/hGluN2C 수용체의 각각 74.6% 및 97.2%의 차단을 유도하였다. 3, 1 및 0.3μM (±)-케타민은 각각 89.7, 74.6 및 44.2%를 차단하였다.

[0695] 10μM 덱스트로메타돈 차단 및 차단 해제 타우-온 및 타우-오프 매개변수는 결과로 각각 46.4초 및 173.5초로 주어졌다. 유사하게, 1μM (±)-케타민 차단 및 차단 해제 타우-온 및 타우-오프 매개변수는 결과로 각각 47.1초 및 151.0초로 주어졌다.

[0696] 10μM (±)-케타민 타우-온 및 타우-오프 매개변수는 결과로 각각 9.9 및 163.2초로 주어졌다.

[0697] 세포내 10μM 덱스트로메타돈은 10/10μM L-글루타메이트/글리신 유도 전류의 차단을 나타내지 않았다.

[0698] **파트 II: GluN1-Glu-2C NMDAR에 대한 전기생리학 트래핑 분석**

[0699] A. 개요

[0700] 본 예시 6의 파트 II에서, 덱스트로메타돈 및 (±)케타민은 GluN2C 서브유닛을 포함하는 재조합 이형체 인간

NMDAR에 대한 트래핑 수준을 평가하기 위해, 수동 패치 클램프에서 평가되었다.

[0701] 1. 방법

[0702] 수동 패치 클램프 기록은 -70mV에서 발생되었다. 시험 항목 트래핑은 hGluN1/hGluN2C-CHO 세포를 10/10μM L-글루타메이트/글리신에 5초 동안 노출시킨 후, L-글루타메이트/글리신과 시험 항목을 30초 동안 동시-적용하고, 이어서 85초 동안 글리신만 적용하고, 마지막으로 50초 동안 L-글루타메이트/글리신에 재노출함으로서 결정되었다.

[0703] 2. 결과

[0704] 덱스트로메타돈 및 (±)-케타민은 GluN1/GluN2C 수용체에 대해 각각 85.9%±1.9% (n = 13) 및 86.7%±1.8% (n = 11) 트랩핑을 나타내었다.

[0705] 3. 결론

[0706] 덱스트로메타돈 및 케타민은 본 발명자의 실험 조건에서 유사한 트래핑을 나타내었고, 이는 항우울제로서 보고된 효능에 (우울증의 고립된 증상에 대한) 관련될 수 있다. 흥미롭게, 케타민 및 덱스트로메타돈 보다 더 강력하지만 낮은 트래핑이 보고된 또 다른 NMDAR 길항제인 메만틴은 말기 치매 치료에 대해 FDA 승인을 받았지만, 항우울 효과가 없는 것으로 보고되었다. 본 발명자의 결과는 MDD에서 NMDAR 채널 차단제의 치료 효능을 위해 높은 트래핑이 바람직할 수 있음을 제시한다.

[0707] B. 요약

[0708] 전기생리학 분석은 GluN1-GluN2C NMDAR 세포 라인에서 10/10μM L-글루타메이트/글리신 유도 전체-세포 전류의 차단과 관련하여, 시험 항목 트래핑을 설정하도록 설계되었다.

[0709] 덱스트로메타돈 및 (±)-케타민이 시험 항목으로 선택되었다.

[0710] 덱스트로메타돈 트래핑 결과는 85.9%이었다.

[0711] (±)-케타민 트래핑 결과는 86.7%이었다.

[0712] 전기생리학 수동 패치 클램프 방법은 덱스트로메타돈 및 (±)-케타민에 대한 트래핑 분석을 설정하는데 사용되었다. 시험 항목 트래핑은 GluN1-GluN2C NMDAR 세포 라인에서 10/10μM L-글루타메이트/글리신 유도 전체-세포 전류의 차단과 관련하여 조사되었다.

[0713] 시험 항목은 아래 도표 49에 도시된다.

표 49

[0714] 도표 49

명칭	MW	공급자	코드	CAS
덱스트로메타돈염산염	345.91	Padova University		5653-80-5 (base)
(±)-케타민 염산염	274.19	Merck Sigma-Aldrich	K2753	1867-66-9
L-글루타메이트	187.1	Merck Sigma-Aldrich	G1626	142-47-2 (anhydrous)
글리신	75.07	Merck Sigma-Aldrich	G7403	56-40-6

[0715] 시험 항목은 적절한 농도로 H_2O에 용해된 후, 사용할 때까지 -20° C에서 보관되었다.

[0716] 스톡 농도는 다음과 같다: 덱스트로메타돈의 경우 100mM = 10mg/289μl; (±)-케타민의 경우 100mM = 10mg/365μl; L-글루타민산의 경우 1M = 100mg/534μl; 글리신의 경우 1M = 100 mg/1332μl.

[0717] C. 시험 시스템

[0718] 시험 항목은 본 예시 1의 파트 I의 프로토콜에 설명된 바와 같이, BioLogic RSC-160 관류 장치와 결합된 HEKA Elektronik Patchmaster 시스템을 사용하여, 수동 패치 클램프 전체-세포 기록 방법으로 평가되었다 (BioLogic, Seyssinet-Pariset, 프랑스). 이종체 인간 GluN1/GluN2C NMDA 수용체를 발현하는 CHO 세포 라인이 이 연구에서

사용되었다.

[0719] D. 실험 설계

[0720] 본 예시 6의 파트 II의 목적은 GluN1-GluN2C 수용체에 대한 유사한 % 전류 차단을 유도하는 농도에서, 덱스트로메타돈 및 (±)-케타민의 트래핑을 평가하는 것이었다.

[0721] 본 예시 6의 파트 I에 보고된 결과를 기반으로, 10 μM 덱스트로메타돈 및 1 μM (±)-케타민이 시험 항목 농도로 선택되었다.

[0722] E. 방법 및 과정

[0723] 폴리-D-리신으로 코팅된 유리 커버슬립에서 성장한 hGluN1/hGluN2C-CHO 세포는 수동 패치 클램프 전체 세포 기록에 의해 연구되었다. 패치 클램프 기록을 위한 세포외 및 세포내 용액은 다음과 같은 구성을 가졌다:

[0724] (1) 세포내 용액 (mM으로): 80 CsF, 50 CsCl, 0.5 $CaCl_2$, 10 HEPES, 11 EGTA, CsOH로 pH 7.25로 조정됨; 및

[0725] (2) 세포외 용액 (mM으로): 155 NaCl, 3 KCl, 1.5 $CaCl_2$, 10 HEPES, 10 D-글루코스, NaOH로 pH 7.4로 조정됨.

[0726] 기록은 유지 전위와 동일한 -70mV 고정 전압에서 발생하였다.

[0727] 초기 차단의 트래핑은 Mealing 등 2001에 설명한 바와 같이, 적절한 농도의 시험 항목을 사용하여 측정되었다. 시험 항목 트래핑은 hGluN1/hGluN2C-CHO 세포를 10/10 μM L-글루타메이트/글리신에 5초 동안 노출시킨 후, L-글루타메이트/글리신과 시험 항목을 30초 동안 동시-적용하고, 이어서 85초 동안 글리신만 적용하고, 마지막으로 50초 동안 L-글루타메이트/글리신에 재노출함으로서 결정되었다. 시험 항목 적용 프로토콜의 도면은 도 49에 도시된다.

[0728] F. 데이터 처리 및 분석

[0729] 10/10 μM L-글루타메이트/글리신 유발 전류의 차단은 다음 공식에 따라 계산되었다:

$$B = [(I - I_B) / I] \times 100 \quad (1)$$

[0730]

[0731] 여기서, I는 L-글루타메이트 길항제 동시-적용 종료 시점까지 선형 외삽법으로부터 유도된 전류 값으로 결정되었고, I_B는 L-글루타메이트/차단제 동시-적용 종료시 측정된 전류이었다.

[0732] L-글루타메이트 유발 전류의 잔류 차단은 다음 공식에 따라 계산되었다:

$$B_R = [(I_{1st} - I_{2nd}) / I_{1st}] \times 100 \quad (2)$$

[0733]

[0734] 여기서, I_{1st}는 1차 L-글루타메이트 노출의 온셋 이후 1초 동안 측정된 최대 전류이고, I_{2nd}는 차단제를 욕조에서 씻어낸 이후 지연된 2차 L-글루타메이트 노출의 온셋 이후 1초 동안 측정된 최대 전류이었다.

[0735] 차단 트래핑(BT), 또는 이전 L-글루타메이트/길항제 동시-적용의 종료시 생성된 초기 차단의 백분율로서 2차 L-글루타메이트 적용의 시작시 남아있는 차단의 양은 다음 공식에 따라 계산되었다:

$$B_T = B_R / B \times 100 \quad (3)$$

[0736]

[0737] 여기서, B 및 B_R은 상기와 같이 정의되었다.

[0738] 데이터는 평균 ± S.E.M으로 표현되었다 (n ≥ 10 셀의 수).

[0739] G. 프로토콜 편차

[0740] 식 (1)의 I 값은 L-글루타메이트 길항제 동시-적용의 끝까지 1차 지수 곡선 보다는 선형 외삽법으로 결정되었다.

[0741] 식 (2)의 I_{1st} 및 I_{2nd}는 L-글루타메이트에 대한 본 발명자의 hGluN1-hGluN2C 반응 온셋이 배양된 쥐의 피질 뉴런에서 Mealing 등. 2001에 의해 보고되었던 것 보다 감지가능하게 더 느리기 때문에, 예시 6에 대한 프로토콜에

보고된 바와 같이, 1차 또는 2차 L-글루타메이트 노출의 온셋 이후 200±25ms 보다는 1000±100ms로 측정되었다.

[0742] H. 결과

[0743] 도 50은 시험 항목의 표시된 적용에 대한 반응으로 트래핑 분석 실험에서 획득된 대표적인 트레이스을 도시한다.

[0744] 도 51A 내지 도 51C에 (좌측) 도시된 바와 같이, 10μM 덱스트로메타돈에 의해 생성된 10/10μM L-글루타메이트/글리신 유발 전류의 차단은 제어 전류에 대해 83.8%±1.2%이었고 [식 (1)], 길항제로 L-글루타메이트 동시-적용의 끝으로 외삽된다. 1μM (±)-케타민 존재하에서 관찰된 차단은 74.0%±1.2%이었다. 두 도면은 통계적으로 달랐다.

[0745] 식 (2)를 사용하여 계산된 잔류 차단에 대해서도 통계적으로 의미있는 차이가 나타났고, 그 결과는 도 51B에 도시된 바와 같이, 10μM 덱스트로메타돈 및 1μM (±)-케타민에 대해 각각 71.8%±1.1% 및 64.1%±1.3%로 주어졌다.

[0746] 식 (3)에서 획득된 블록 트래핑은 10μM 덱스트로메타돈 및 1μM (±)-케타민에 대해 각각 85.9%±1.9% 및 86.7%±1.8%이었다 (우측). 이러한 효과의 양은 두 시험 항목에 대해 동일한 것으로 간주되어야 한다.

[0747] I. 논의

[0748] (±)-케타민은 배양된 쥐의 피질 뉴런을 사용하여, GluN1/GluN2C 수용체에 대한 본 발명자의 실험 조건에서 (Mealing GA, Lanthorn TH, Murray CL, Small DL, Morley P. 차단 동역학이 유사한 저친화성 비경쟁적 N-메틸-D-아스파르트산 수용체 길항제의 트래핑 정도의 차이 (Differences in degree of trapping of low-affinity uncompetitive N-methyl-D-aspartic acid receptor antagonists with similar kinetics of block). J Pharmacol Exp Ther. 1999;288(1):204-210에 의해) 보고된 86.0% 값과 최적으로 일치하여 86.7% 트래핑을 나타냈다.

[0749] 본 발명자는 또한 GluN1/GluN2C 수용체에 대한 덱스트로메타돈에 관하여 유사한 85.9% 트래핑 차단 값을 얻었다.

[0750] 트래핑 길항제는 NMDAR 강장제 차단을 생성하는 것으로 제시되었다 (Mealing 등, 2001). NMDAR 강장제 차단은 주변 글루타메이트 억제에 기능적일 수 있고, 차례로 NMDAR 차단제 항우울제 효과와 관련될 수 있다.

[0751] 케타민에 대한 보다 안전한 덱스트로메타돈 프로파일은 GluN1/GluN2C 수용체에 대한 차등 트래핑의 관점에서 설명될 수 없다. 대신에, 두 차단제가 유사한 수준으로 NMDAR에서 트래핑된다는 점을 고려하여, GluN2C 및 GluN2D를 포함한 다른 아형에서 더 낮은 덱스트로메타돈 효능이 유사한 자유 뇌 농도에서 케타민 보다 낮은 수준의 NMDAR 강장제 차단을 결정하는 것이 가능하다.

[0752] J. 결론

[0753] 10μM 덱스트로메타돈 및 1μM (±)-케타민은 각각 hGluN1/hGluN2C 수용체의 83.8 및 74.0%의 차단을 유도하였다.

[0754] 잔류 차단은 10μM 덱스트로메타돈 및 1μM (±)-케타민에 대해 각각 71.8 및 64.1%이었다.

[0755] 결과적으로, 차단 트래핑은 10μM 덱스트로메타돈 및 1μM (±)-케타민에 대해 각각 85.9 및 86.7%이었다.

[0756] **파트 III: 마그네슘의 존재하에서 덱스트로메타돈 자동 전기생리학 연구**

[0757] A. 배경

[0758] 생리학적 조건에서, NMDAR 기공은 세포외 마그네슘에 의해 차단된다. 그러므로, 본 발명자는 세포외 마그네슘의 존재 및 다른 막 전위에서, 이형체 인간 NMDAR의 덱스트로메타돈 차단을 특성화하려고 시도하였다.

[0759] B. 방법

[0760] 자동화된 패치 클램프 실험은 QPatch HTX에서 (Sophion Bioscience A/S, Ballerup, 덴마크) 재조합 이형체 인간 NMDAR을 안정적으로 발현하는 CHO 세포를 사용하여 실행되었다. 세포는 1mM 세포외 마그네슘의 존재하에서 전위를 유지하는 -80mV에서 클램핑되었다. 전압 프로토콜은 밀봉 및 세포 NMDAR 발현 수준의 품질을 확인하기 위해 +60mV까지의 탈분극 2초 단계 펄스를 포함하였고, 이어서 유지 전위로 2초 램프가 다시 이어졌다. L-글루

타메이트 유도 전류는 10μM 덱스트로메타돈의 부재 또는 존재하에서, 프로토콜 동안 다른 전압에서 측정되었다.

[0761] C. 결과

[0762] 10μM 덱스트로메타돈 효과는 10μM 또는 1μM L-글루타메이트 유도 전류에 대해 연구되었다. GluN1/GluN2D 수용체는 덱스트로메타돈 차단에 더 민감한 인간 이형체 NMDAR로 나타났다: 10μM 또는 1μM L-글루타메이트 유도 전류는 -30mV 내지 -80mV의 범위에, 측정된 모든 음의 전압에서 덱스트로메타돈에 의해 현저하게 감소되었다. 특히, 덱스트로메타돈 적용 이후 -80mV에서 1μM L-글루타메이트의 존재하에서의 잔류 전류는 결과로 적용 전 수준의 62.5±4.1% (n=4)를 제공한 반면 대조 세포에서는 그 값이 102.5±3.9% (n= 4)이었다. 덱스트로메타돈에 의해 수행되는 차단은 마그네슘에 의해 수행되는 차단과 유사하게, 전압 의존적이었다.

[0763] D. 결론

[0764] 덱스트로메타돈은 1mM 세포외 마그네슘의 존재하에서 GluN1/GluN2D 수용체에서의 L-글루타메이트 전류를 우선적으로 감소시켰고, 이는 주변 L-글루타메이트에 의해 활성화된 NMDAR에서의 덱스트로메타돈 작용 및 위상적으로 활성화된 NMDAR의 잠재적 절약을 시사한다.

[0765] **예시 7 - 바이오마커**

[0766] A. 배경

[0767] 상기에 논의된 바와 같이, 덱스트로메타돈은 건강한 피시험자에서 BDNF를 증가시킨다. 본 예시 7에서, 본 발명자는 BDNF 및 추가 바이오마커의 분석이 질병-조절 치료제로서 덱스트로메타돈을 개시하는 본 출원 전반에 걸쳐 개괄된 결과에 추가될 수 있다고 가정한다. 특히, BDNF는 여기서 논의된 MDD 환자에서 덱스트로메타돈에 의해 향상되지 않았으므로, BDNF 혈장 수준은 MDD에서 덱스트로메타돈 효과의 신뢰할 수 있는 마커가 될 것 같지 않다. 그러나, 덱스트로메타돈은 염증성 바이오마커 수준이 더 높은 환자에서 더 높은 효능을 나타냄으로서, 이러한 환자에게 증상 뿐만 아니라 질병-조절 효과도 발휘할 수 있다 (증상 효과는 일반적으로 특정 질병 바이오마커를 갖는 환자에게 특이적이지 않지만, 동일한 증상을 공유하지만 반드시 동일한 질병은 아니고, 그 질병에 대한 동일한 병태생리학을 공유하는 다른 환자 집단에서 나타난다).

[0768] B. BMI, 덱스트로메타돈의 바이오마커 및 치료 효과

[0769] 1. 방법

[0770] 이 실험에서, 환자들은 BMI에 따라 다음 집단으로 나뉜다 (30 미만 = 비비만; 30 이상 = 비만): 집단 1: 비비만 (39명의 환자) 및 집단 2: 비만 (21명의 환자).

[0771] 2. 1일차 치료 전 기준선 수준으로부터의 결과 요약:

[0772] 측정된 바이오마커의 일반적인 감소 경향은 비만이 아닌 환자에 비해 비만 환자에서 관찰될 수 있었다 (즉, MDD 진단을 받은 환자에서, 비만 환자에 비해 비만하지 않은 환자에서 더 높은 수준의 염증 마커가 관찰되었다). 비비만 환자와 비만 환자 간에 통계적으로 의미있는 차이가 입증될 수 있었다: (1) GM-CSF * p-값 0.024 (비비만 및 비만 환자에서 각각 57,129±75,891 대 4,673±12,943); (2) IL-2 ** p-값 0.004 (비비만 및 비만 환자에서 각각 6,882±9,602 대 2,086±1,932); 또한 (3) IL-7 ** p-값 0.004 (비비만 및 비만 환자에서 각각 1,359±1,382 대 0,628±0,481).

[0773] 다른 염증성 사이토카인은 (IL-13, IL-4, IL-6, MIP-1a, TNF-a) 두 그룹에서 통계적 유의성에 가까웠고, 다시 비만이 아닌 환자에서 더 높은 수준을 보였다.

[0774] 상기의 결과는 비만 환자에서 나타난 반응의 부족과 상관될 때 (도표 32-34를 참조), 덱스트로메타돈이 더 높은 수준의 염증성 바이오마커를 가진 환자에서 더 높은 효능을 나타냄으로서, 증상 효과만이 아니라 이러한 환자에서 질병-조절 효과를 발휘할 수 있음을 나타낸다 (증상 효과는 일반적으로 특정 질병 바이오마커를 갖는 환자에게 특이적이지 않지만, 동일한 증상을 공유하지만 반드시 동일한 질병이 아닌 다른 환자 집단에서 나타난다).

[0775] 만성 질환의 치료를 위한 순전히 증상적 약물의 효과는 약물 중단 후 그 정도가 신속하게 감소하거나 갑자기 중단되는 경향이 있다는 것이 종래 기술에 숙련된 자에 의해 일반적으로 인정된다 (특히, 본 출원에서 발명자에 의해 개시된 덱스트로메타돈 2상 임상 시험, 예시 3의 경우와 같이, 갑작스러운 중단 이후). 증상 약물의 갑작스러운 중단은 증상의 증가 또는 반동 현상을 결정할 수도 있다 (치료 전 기준선과 비교하여 증상의 악화). 증

상 치료의 한 예는 통증 치료를 위한 모르핀, 예를 들어 수술 후 통증 치료를 위한 모르핀이다. 수술 후 염증 상태가 여전히 활성화되어 있는 동안 모르핀을 중단하면, 통증이 몇 시간 내에 재개된다.

[0776] 한편, 증상 개선을 포함한 질병-조절 치료에 의한 개선은 예를 들어, 암, 다발성 경화증, 류마티스 관절염에 대한 면역요법의 치료 주기가 끝난 후에, 치료의 중단 이후에도 지속되는 경향이 있다. 면역요법 주기가 적절하다면, 환자의 증상, 예를 들어 질병 부위의 통증 및 염증, 전신 권태감 등은 일반적으로 예시 3에 설명된 환자의 경우와 같이, 갑작스러운 치료 중단 시 재발하지 않게 된다.

[0777] MDD 환자에서 덱스트로메타돈에 의해 유도된 관해가 치료 중단 이후에도 예기치 않게 지속되었다는 사실은 예를 들어 우울한 기분을 가진 피시험자에서 아편유사제나 알코올을 사용하는 경우에 발생할 수 있는 것과 같이, 덱스트로메타돈의 작용이 순전히 증상적이지 않음을, 즉 덱스트로메타돈이 약물 중단 및 수용체 결합 해제 시 중단되는 효과인, 특정 수용체에 결합하여 단순히 증상적으로 환자의 기분을 좋게 하는 것이 아님을 시사한다. MDD 환자에서 덱스트로메타돈에 의해 유도된 지속적인 관해는 (MADRS 및 다른 척도의 다차원적 개선에 의해 결정되므로, 고립 증상으로서의 우울증 개선에 제한되지 않는) 덱스트로메타돈의 효과가 상기 예시 3에서 논의된 2a상 시험에서 임상적으로 처음으로 입증된 신경 가소성 메카니즘을 포함하여 (예를 들어, 새로운 NMDAR 채널의 합성과 관련될 수 있는 신경가소성 메카니즘), 질병-조절 효과에 이차적일 가능성이 있음을 시사하고, 이는 또한 예를 들어, 예시 2를 참조한다.

[0778] 생체내 (쥐) 및 시험관내의 (아래의 예시 11에서) 새로운 실험은 또한 덱스트로메타돈 효과가 MDD에서 증가할 수 있는 염증성 바이오마커를 조절할 수 있음을 제시한다. 덱스트로메타돈으로 치료받은 MDD 환자의 혈장 분석은 MDD를 포함한 신경정신 질환에서 질병-조절 효과를 추가로 확인한다. 마지막으로, 수용체에 대한 결합을 통해 증상을 완화시키는 증상 치료의 경우, 약물의 더 높은 혈장 수준에서 더 많은 수용체 결합이 일어나기 때문에, 더 많은 용량이 더 강력한 효과를 발휘할 것으로 종래 기술에 숙련된 자에 의해 예상된다.

[0779] 예상치 않게, 이는 더 낮은 용량(25mg)이 50mg의 더 높은(두배) 용량과 비교하여 동일하거나 더 잘 작동하는 것으로 나타난 본 발명자의 2a상 시험의 경우가 아니다. 더 높은 용량은 약 두 배의 혈장 수준과 더 많은 부작용에 대한 경향을 초래했지만, 25mg에서 볼 수 있는 것보다 효능이 개선되지 않았다. MDD에서 덱스트로메타돈에 대한 25mg "치료 상승 한도 효과"의 예상치 못한 관찰은 예를 들어 암, 다발성 경화증 또는 류마티스 관절염에 대한 면역요법에서 볼 수 있듯이 질병-조절 효과를 다시 시사한다 - 질병-조절 치료의 용량을 두 배로 했다고 해서 반드시 개별 환자의 효능이 향상되거나 완치된 환자의 퍼센트가 증가하는 것은 아닌 질병 상태. 그러나, "상승 한도 효과" 보다 높은 용량은 약물의 안전성 및 내약성 프로파일에 따라 부작용을 증가시킬 수 있다. 덱스트로메타돈의 경우, 이러한 부작용 증가가 존재하였지만, 덱스트로메타돈의 안전성 창이 크기 때문에 임상적 의미가 낮았다. 한편, 급성 통증에 대한 아편유사제 치료와 같은 증상적 치료의 경우, 모르핀 용량을 두 배로 늘리면 항상 더 심각한 부작용이 발생하지만 일반적으로 더 나은 통증 조절이 가능하다. 본 발명자는 여기서 매일 또는 심지어 간헐적으로 투여되는 훨씬 더 낮은 용량의 덱스트로메타돈이 (예를 들어, 0.1-24 mg와 같이, 1일 25mg 미만) 더 높은 용량에 반응하지 않는 환자의 서브세트에서 MDD를 효과적으로 치료할 수 있음을 개시하였다. 부가적으로, 더 높은 용량의 덱스트로메타돈, 예를 들면 1일 최대 1000mg까지 적정된 용량이 개선되지 않은 25 또는 50mg 그룹의 환자 서브세트에서 (예를 들면, 비만 환자) 이득을 줄 수 있는 것이 가능하다.

[0780] 또한, 벤조디아제핀, 아편유사제 및 도파민 길항제와 같은 신경전달물질 수용체에, 또는 SSRI와 같은 수송체 경로를 포함한 경로에 직접 작용하는 약물은 특정한 신경전달물질 경로에 영향을 미쳐 효과를 발휘하는 것으로 보이고, 이러한 약물을 중단하면 효과가 갑자기 중단되거나 심지어 반등하기도 한다. 덱스트로메타돈으로 치료받은 2a상 연구 환자에서 볼 수 있듯이, 특히 금단 효과가 없는 상태에서, 치료 중단 이후 일주일 동안 치료 효과가 지속된다는 것은 신경 가소성 메카니즘을 통한 질병-조절 효과를 강력하게 시사한다. 또한, 효과의 지속성은 또한 지속적인 (예를 들어, 매일) 만성 요법과 대조적으로 간헐적 만성 요법의 (예를 들어, 매주) 잠재적 효능을 시사한다.

[0781] 본 발명자의 2a상 연구에서 나타난 예상치 못한 질병-조절 효과는 본 발명자에 의해 상기 효과 및 작용 메카니즘의 상호작용 및 상승작용을 포함하여 (알로스테릭 상호작용을 포함하는), 다양한 작용 메카니즘으로 인한 것이고, 이러한 효과가 NMDAR와 그 아형, 니코틴 수용체 (Talka 등, 2015), 시그마-1 (Maneckjee R, Minna JD. 인간의 뇌와 폐 조직에 존재하는 메타돈 수용체 아형의 특성화 (Characterization of methadone receptor subtypes present in human brain and lung tissues). Life Sci. 1997;61(22)), SET, NET, MOP,DOP, KOP (Codd 등, 1995), 특히 5-HT2A 및 5-HT2C 수용체를 포함하는 세로토닌 수용체와 그 아형 (Rickli A, Liakoni E, Hoener MC, Liechti ME. 시험관 내에서 인간 5-HT 및 노르아드레날린 수송체의 아편유사제 유도 억제: 세로

토닌 증후군의 임상 보고서에 대한 연결 (Opioid-induced inhibition of the human 5-HT and noradrenaline transporters in vitro: link to clinical reports of serotonin syndrome). Br J Pharmacol. 2018;175(3):532-543), 및 히스타민 수용체을 (Codd 등,1995; Kristensen K, Christensen CB, Christrup LL. 메타돈 입체 이성질체와 모르핀의 뮤1(mu1), 뮤2(mu2), 델타(delta), 카파 아편유사제(kappa opioid) 수용체 결합 프로필 (The mu1, mu2, delta, kappa opioid receptor binding profiles of methadone stereoisomers and morphine). Life Sci. 1995;56(2):PL45-PL50) 포함하여 여러 수용체 및 경로에서 덱스트로메타돈의 다양한 작용에 의해 결정될 수 있는 것으로 가정된다. 마지막으로, 덱스트로메타돈의 효과는 직접적이거나 대사 산물인 EDDP 및 EMDP와 이들의 이소형을 통해 나타날 수 있다. Forcelli 등, 2016은 (Forcelli PA, Turner JR, Lee BG 등. 메타돈 대사 산물 2-에틸-5-메틸-3,3-디페닐-1-피롤린의 항불안 및 항우울 효과 (Anxiolytic- and antidepressant-like effects of the methadone metabolite 2-ethyl-5-methyl-3,3-diphenyl-1-pyrroline) (EMDP). Neuropharmacology. 2016; 2015.09.012) nAChR 채널에서 임상전 모델 및 수용체 결합 데이터를 기반으로, 또한 불안 및 우울증의 완화에 대한 담배 제품에서 발견되는 니코틴의 증상 작용을 기반으로, 불안 및 우울증 증상의 치료를 위한 메타돈 대사 산물 및 특히 EMDP를 개시한다.

[0782] 상기에 개시된 본 발명자의 데이터 및 아래 예시 8에서 제시된 NMDAR 도킹 결과에 대한 데이터를 기반으로, 본 발명자는 예시 8에 제시된 것을 포함하여 메타돈의 대사산물이 증상 치료에 효과적일 뿐만 아니라, 본 출원에서 개시되고 과도한 Ca^{2+} 유입에 의해 유발, 유지 또는 악화되는 신경정신 질환 및 장애와 다른 질병 및 장애에 대한 질병-조절 치료제로서 효과적일 수 있음을 개시한다. 이러한 질병-조절 효과는 덱스트로메타돈에 의해 유도된 신경 가소성의 반영이다.

[0783] 현재 이해는 덱스트로메타돈이 유리한 PD 프로파일을 갖는 NMDAR 개방 채널 비경쟁 차단제로서 주로 작용하고 (여기서의 예시에 나타난 바와 같이), NMDAR에서의 채널 차단 작용이 과활성 채널의 조절을 유발한다는 것이다 (NMDAR은 다양한 질병 및 장애에서 잠재적으로 병리학적 과활성 상태이다). 과활성 NMDA 수용체를 차단하고 그에 의해 칼슘 유입을 조절함으로서, 덱스트로메타돈 치료는 덱스트로메타돈에 의한 NMDAR 단백질 서브유닛의 합성 유도에 대한 새로운 시험관 내 실험 결과에 의해 입증된 바와 같이 다운스트림 신경가소성을 결정한다 (예시 2). NMDAR 조절의 이러한 다운스트림 효과는 MDD에 대한 본 발명자의 2a상 연구 결과에서 나타난 바와 같이, 신속하고 지속적인 잠재적 질병-조절 치료 이점을 초래한다.

[0784] 5-HT2A 세로토닌 수용체 아형 5-HT2A은 (또한, 더 적은 정도로 5-HT2C) 세로토닌 수용체 작용제의 환각/정신병 모방 효과 및 잠재적 치료 효과와 연관된다 [Halberstadt AL, Geyer MA. 다중 수용체는 인돌아민 환각제의 행동 효과에 기여한다 (Multiple receptors contribute to the behavioral effects of indoleamine hallucinogens). Neuropharmacology. 2011;61(3): 364-381]. 환각 약물은 지금 신경 가소성 효과와 연관되어 있다 (Ly 등, 2018). Rickli 등, 2018은 덱스트로메타돈이 5-HT2A 작용제 (Ki 520nM) 및 5-HT2C 작용제 (Ki 1900nM)임을 보고한다. 따라서, 덱스트로메타돈이 신경 가소성을 유도할 수 있는 새로운 메카니즘이 있거나, 대안적으로 두 메카니즘 사이에 (NMDAR 길항 작용 및 5-HT2A 작용) 시너지 또는 중첩이 (알로스테릭 상호작용) 있을 수 있다. 본 발명자에 의해 개시된 결합 연구에 의해 나타난 바와 같이, PCP 부위에서 NMDAR의 기공 내에 위치하는 덱스트로메타돈과 별도로 또는 추가로, 본 발명자는 활성화된 5-HT 수용체 2A 및 2C와 $Ca2^{+}$ 투과성 NMDAR 사이에 알로스테릭 상호작용을 가정한다: 5-HT2A-C 작용제가 (예를 들면, 덱스트로메타돈) 이러한 수용체에 결합하면, 구조적으로 연관된 NMDAR 병리학적 과활성 채널이 폐쇄된다.

[0785] NMDAR 채널 차단에 요구되는 라세미 l,d-메타돈 및 l-메타돈의 농도는 아편유사제 수용체를 활성화하는데 요구되는 농도보다 더 높다 [Matsui A, Williams JT. 쥐의 청반에서 L- 및 D-메타돈에 의한 μ-아편유사제 수용체의 활성화 및 Kir3 칼륨 채널 및 NMDA 수용체 전도도 차단 (Activation of μ-opioid receptors and block of Kir3 potassium channels and NMDA receptor conductance by L- and D-methadone in rat locus coeruleus). Br J Pharmacol. 2010;161(6):1403-1413]: 라세미 메타돈과 레보메타돈은 모두 통증 치료를 위해 임상적으로 사용되고 있고 그 임상 효과는 강력한 뮤 아편유사제 효과에 의해 지배된다. 덱스트로메타돈은 레보메타돈에 비해 아편유사제 수용체에 대한 친화도가 20배 이상 낮다 (Codd 등, 1995). MDD 환자에서 치료적인 덱스트로메타돈의 농도는 NMDAR 차단을 수행하기에 충분하고 (낮은 마이크로몰 범위, Gorman 등, 1997), 아편유사제 작용제 작용 또는 세로토닌 수용체 작용제 효과로 인한 임상적으로 의미있는 부작용 없이, 즉 아편유사제의 전형적인 진정 및 호흡 억제 효과가 없고 특정 NMDAR 채널 차단제 (예를 들어, PCP 및 케타민) 및 특정 환각 5-HT2A 작용제 약물의 (예를 들어, 실로시빈, DOI 및 LSD) 전형적인 정신분열/환각 효과 없이, 5-HT2A 및 5-HT2C 작용제 작용에 의해 유도된 신경 가소성 효과를 중재할 수 있다 (5-HT2A 및 5-HT2C 수용체 각각에 대한 높은 나노몰 및

낮은 마이크로몰 범위, Rickli 등, 2019) (예시 3은 MDD에 대한 덱스트로메타돈 치료제의 용량으로부터 인지 부작용이 없음을 입증한다).

[0786] MDD에 대한 지속적인 치료 이점을 초래하는 용량에서 임상적으로 의미있는 아편유사제 관련 부작용 및 환각/정신모방 효과의 결여는 이제 여기에 제시된 2a상 결과에 의해 나타내어진다 (예시 3을 참조). 2a상 연구에서 얻은 상기의 결과와 관찰은 덱스트로메타돈의 신속하고 지속적인 항우울 효과가 NMDAR 채널 차단제로서의 수반되는 작용에 의해 (Gorman 등, 1997), 또한 잠재적으로 5-HT2A 및 5-HT2C 작용제로서의 작용에 의해 (Rickli 등, 2018) 결정될 수 있음을 시사한다. 이들 두 작용은 모두 잠재적으로 신경 가소성을 유도하고 MDD로 고통받는 환자에서 과활성 NMDAR 채널의 활동을 조절하면서, NMDAR 채널 차단과 가능하게 세로토닌 작용 (5-HT2A 및 5-HT2C 수용체 작용제 작용), 가능하게 다른 세로토닌 수용체 및 경로를 통해 신경 가소성과 신경 연결을 촉진시킨다 (ARPE-19 세포에서의 신경 가소성 조절에서 5-HT2A 및 5-HT2C 수용체의 역할을 더 잘 정의하기 위한 실험이 진행 중이고, 세로토닌과 NMDA 수용체 간의 구조적 연관성 검증을 포함한다).

[0787] 이와 같이, 본 발명자는 MDD 환자에서 덱스트로메타돈의 신속하고 지속적인 치료 작용에 대한 강력한 신호 뿐만 아니라 잠재적으로 치료 효능의 기반이 되는 덱스트로메타돈의 매우 효과적인 신경 가소성 효과를 설명하는 새로운 작용 메카니즘을 제공하였다. 특히, 본 발명자의 임상 및 실험 결과는 MDD 및 관련 장애, 예를 들어 여기서 열거된 장애에서 덱스트로메타돈의 지속적인 질병-조절 효과를 시사하고, 본 출원에서 논의된 다른 MDD 관련 장애에서 잠재적인 치료적 질병-조절 효과를 확인한다.

[0788] 본 발명자는 이제 적응 장애(AD)의 치료 및 물질 사용 장애(SUD)의 치료에 대한 신체 증상 장애(SSD)의 치료를 위한 덱스트로메타돈의 용도를 또한 개시한다. 본 발명자가 CNS 및/또는 PNS 뉴런 (신경병증성 통증), 체성 통각 수용체 (체성 통증), 및 내장 통각 수용체의 (내장 통증) 자극으로 인한 암 통증이 있는 환자에서 덱스트로메타돈의 효과를 조사했을 때 (Morley 등, 2016), 통증 강도에 대해 측정가능한 영향은 없었다.

[0789] 여기서 개시된 본 발명자의 새로운 임상 및 실험 결과는 덱스트로메타돈이, 아마도 통증 강도를 감소시키는데에는 효과가 없을 수 있지만, 이러한 장애의 가장 두드러진 증상이 통증인 경우를 포함하여, SSD 및 AD에 대해 잠재적으로 질병-조절적임을 시사한다. 추가 설명을 위해, 덱스트로메타돈의 SSD 및 AD에 대한 통증 성분의 효능은 고전적인 진통제가 가장 잘 작용하는 (예를 들어, 라세미 메타돈), CNS 또는 PNS 뉴런 (신경병증성 통증), 체성 통각 수용체 (체성 통증), 및 내장 통각 수용체의 (내장 통증) 지속적인 자극으로 인한 통증에 직접적인 영향을 미치지 않는다. 그러나, SSD와 AD 모두에서 통증 성분이 있는 경우와 같이 (예를 들면, 수술 후 통증 또는 만성 암 통증과 대조적으로), CNS 또는 PNS 뉴런 (신경병증성 통증), 체성 통각 수용체 (체성 통증), 및 내장 통각 수용체의 (내장 통증) 지속적인 자극이 주요 원인이 아닐 때, 본 출원 전반에 걸쳐 정의되고 예시 1-11에 개시된 잠재적인 질병/장애 조절 효과 및 작용 메카니즘을 갖는 덱스트로메타돈은 MDD 환자에서 볼 수 있는 바와 같이, 잠재적으로 치유될 수 있다 (여기서의 예시 3에서 볼 수 있는 바와 같이).

[0790] 동일한 추론을 따라, 본 발명자는 이제 덱스트로메타돈이 특히 "마약성 진통제에 대한 내약성 및 물리적 의존성 및/또는 물리적 갈망"이 없는 경우에, 잠재적으로 SUD에 대한 질병-조절 치료제임을 개시한다. 새로운 임상 및 실험 증거를 기반으로, "피시험자가 마약성 진통제 및/또는 중독성 물질에 대한 내약성과 물리적 의존성 및/또는 물리적 갈망이 있는 경우", Isbell H, Eisenman AJ: 메타돈 계열의 일부 약물의 중독 가능성 (The addiction liability of some drugs of the methadone series). J Pharmacol Exp Ther. 1948; 93: 305-313; Fraser and Isbell, 1962에 의해 확인된 바와 같은 라세미 메타돈 또는 레보메타돈과 같이, 아편유사제 대체 요법이 가장 잘 작용할 수 있다. 상기를 기반으로, 본 발명자는 이제 "피시험자가 마약성 진통제 및/또는 중독성 물질에 대한 내약성과 물리적 의존성 및/또는 물리적 갈망이 있는 경우" 덱스트로메타돈이 표시되지 않음을 개시한다. 본 발명자는 이제 피시험자가 더 이상 중독성 물질에 대한 내약성을 갖지 않고 더 이상 중독성 물질에 대한 물리적 의존성을 갖지 않고 더이상 중독성 물질에 대한 물리적 갈망을 갖지 않지만, 그럼에도 불구하고 SUD로 고통받을 때, 잠재적인 질병/장애 조절 효과가 있는 덱스트로메타돈이 MDD 환자에서 볼 수 있듯이, 잠재적으로 SUD를 치료할 수 있음을 개시한다.

[0791] 더 낮은 용량의 더 나은 효능에 대한 (상승 한도 효과) 신호와 함께 25 및 50mg 용량 사이의 예상치 못한 유사한 효과는 예시 2에 자세히 설명된 새로운 시험관내 연구 및 Bernstein 등, 2019년에서의 1상 PD 및 PK 결과에 대한 새로운 검토를 포함하는 텍스스트로메타돈에 대한 이전 PD e PK 결과의 검토를 촉구하였다. 예시 2의 새로운 시험관내 연구 및 PK/PD 모델링의 검토 결과는 또한 더 낮은 용량에 대한 잠재적인 효능을 지적한다. 또한, 본 발명자가 덱스트로메타돈으로 치료된 정상 지원자에서 BDNF 혈장 수준을 측정했을 때, 25mg으로 치료된 피시험자에서 BDNF의 강력한 통계적 증가를 발견했지만 50mg 및 75mg으로 치료된 피시험자에서는 그렇지 않았다. 마

지막으로, 매우 낮은 5mg 단일 용량의 덱스트로메타돈만이 방향성 효과에 대한 신호와 연관되었다. 종합하면, 이러한 발견은 매우 낮은 용량의 덱스트로메타돈의, 예를 들어 7일차에 25mg 용량에 대해 예시 3에 나타난 것보다 훨씬 더 낮은 혈장 수준을 초래하고 5mg 용량에 대한 혈장 수준 부근에서, 14일차에 (치료 효과가 여전히 존재했을 때) 동일한 환자에서 관찰된 혈장 수준에 더 가까운 용량의 가능한 치료 효과를 시사한다. 본 발명자에 의해 실행된 연구 및 본 출원에 개시된 결과를 기반으로 (예시 1-7을 참조), MDD에 대한 덱스트로메타돈의 치료 농도는 생리학적으로 기능적인 NMDAR을 절약할 수 있다 (NR1-GluN2A 및 NR1-GluN2B 채널의 빠른 생리학적 개방 및 폐쇄는 덱스트로메타돈이 위상적으로 개방된 채널에 진입하여 차단하는 것을 허용하지 않지만, NR1-GluN2C 및 가능하게 NR1-GluN2D와 같은, 선택된 병리학적 및 강장성 과활성 채널에 작용하기에 동일한 치료 농도로 충분하고 효과적이다).

[0792] 라세미 메타돈, d-메타돈, l-메타돈, 라세미 케타민, 및 [S]-케타민의 NMDAR 채널 차단 효과는 HEK293 세포에서 발현되는 인간 복제 NMDA NR1/NR2A 및 NR1/NR2B 수용체의 전기생리학적 반응을 측정하여 시험관 내에서 입증되었다. 이들 화합물 각각에 대한 대략 동등한 절반 최대 억제 농도(IC50)는 낮은 마이크로몰 범위에 있었다 (Bernstein 등, 2019의 도표 1을 참조). 덱스트로메타돈의 뮤 아편유사제 수용체에 대한 나노몰 친화도는 레보메타돈에 비해 1/10 내지 1/30이고 (Gorman 등, 1997; Kristensen 등, 1994), 일반적으로 처방된 용량에서 라세미 메타돈의 뮤 아편유사제 관련 진통 효과는 레보메타돈에 기인된다 (아편유사제 수용체에서의 효능은 라세미 메타돈의 두 배의 효능으로 열거되므로, 아편유사제 효과에 대한 덱스트로메타돈의 기여는 무시할 수 있는 것으로 간주된다). 마이크로몰 (NMDAR) 및 나노몰 (뮤 아편유사제 수용체) 친화성으로 인해, 본 발명자의 임상 연구에 사용된 덱스트로메타돈의 용량은 (25 및 50mg) (임상적으로 의미있는 아편유사제 효과를 갖지 않은) 정상적으로 기능하는 단계적 활성화 NMDAR 채널을 차단할 가능성이 없다. 특정한 질병 및 장애의 치료를 위한 특정 약물의 경우 높은 수용체 점유율이 바람직할 수 있다. 덱스트로메타돈 및 다른 NMDAR 조절제의 경우, 치료 표적은 병리학적 또한 강장적 과활성 NMDAR에 (예를 들면, GluN2C 또는 2D) 제한되고 단계적 과활성 NMDAR에는 (예를 들면, GluN2A, 2B) 제한되지 않는다. 그러므로, 정상적으로 기능하는 위상 NMDAR의 수용체 점유는 아편유사제 부작용이나 다른 임상적으로 의미있는 부작용이 없는 용량에서 매우 낮거나 더 나은 것이 없어야 하고, MDD의 치료에 (예시 3에서 나타내진 바와 같이) 또한 병리학적 강장적 과활성 NMDAR을 조절하는데 효과적이어야 한다 (2c 및 2d 서브유닛을 포함하는 병리학적 강장적 과활성 NMDAR은 예시 6에서 볼 수 있는 바와 같이, 결합 덱스트로메타돈, "on" 동역학을 허용한다). 이러한 유망한 작용 방식인, 정상적으로 기능하는 수용체를 절약하면서 과활성화된 수용체를 선택적으로 표적화하는 것은 환자에 대한 본 발명자의 임상 결과에서 볼 수 있는 바와 같이 (예시 3), 더 높은 용량에 비해 더 낮은 용량으로부터 더 나은 결과에 대한 신호에 의해 지원된다.

[0793] 또한, NMDAR의 이온 채널 영역은 다른 수용체 서브유닛에 걸쳐 고도로 보존되고, 이는 임상적으로 효과적인 (MDD) 시험을 거친 NMDAR 차단제의 아형 선택성이 낮은 이유가 될 수 있다 (10배 미만) - 예시 1에서 볼 수 있는 바와 같이. 그러나, Mg^{2+}의 생리학적 수준은 GluN2A 또는 GluN2B-함유 수용체의 메만틴 억제를 거의 20배 감소시키므로, GluN2C 및 GluN2D 서브유닛을 포함하는 NMDA 수용체의 선택성은 최대 10배 증가하는 것으로 나타났다 (Kotermanski 및 Johnson, 2009). Mg^{2+}와 덱스트로메타돈의 조합은 동일한 수용체에 대한 덱스트로메타돈의 선택성을 증가시켜 효능을 향상시킬 수 있다.

[0794] 본 발명자는 또한 덱스트로메타돈에 의한 NMDAR 차단이 세포외이고, 덱스트로메타돈이 세포막을 침투한 이후, 세포내 차단이 실질적으로 기여할 가능성이 낮은 것으로 결정하였다 (예시 6).

[0795] 결론적으로, 덱스트로메타돈은 병리학적으로 개방적이고 강장적 과활성인 수용체에 작용하고 [흥분성 및 억제성 뉴런, 가능하게 성상교세포 및 다른 세포에서] 과도한 Ca2+ 유입을 하향조절함으로서, 결과로 신경 가소성의 재개를 제공하여 기능장애 기억 (MDD의 경우 정서적 우울 기억) 및 다른 질병 및 장애의 경우 다른 기능장애 기억 미세 회로 위에 새로운 기억이 형성되도록 허용한다. 과활성화된 강장적 또한 병리학적으로 개방된 NMDAR에서 볼 수 있는 만성적 과도한 Ca^{2+} 유입은 생리학적 신경 가소성에 억제 효과를 갖는 과도한 Ca^{2+} 유입을 결정한다 (시냅스 전 글루타메이트 방출 및 시냅스 후 Ca^{2+} 유입이 없는 완전한 자극 결여와 유사하게, 감소된 신경 가소성을 제공한다). 너무 많거나 너무 적은 Ca^{2+} 유입은 위상적으로 (너무 많거나 너무 적은 자극, 자극이 LTP -eEPSC를 유발) 또한 강장적으로 (너무 많거나 너무 적은 Ca2+ 유입, 자극이 LTP -mEPSC를 독립적으로 "유지") 신경 가소성을 방해한다. 또한, 과도한 Ca^{2+}의 하향조절에 대한 덱스트로메타돈의 작용은 신경발달 및 신경퇴행성 장애 및 노화와 관련된 세포자멸사를 포함한 세포 손실과 관련된 질병 및 장애의 예방과 함께, 세포자멸사를 포함한 더 심각한 세포 기능장애를 예방할 수 있다. 참고로, 상기에 자세히 설명된 바와 같이, MDD가 신경 세포

및 성상교세포 손실과도 관련되어 있다는 증거가 있다.

[0796] **예시 8 - 분자 모델링**

[0797] 이 연구에서, 예시 3 (상기의) 및 본 출원에 개시된 다른 예시로부터 유도된 덱스트로메타돈의 질병-조절 작용을 기반으로, 본 발명자는 메타돈 대사산물, 예를 들어, EDDP가 또한 질병-조절할 수 있음을 개시한다. 본 개시에 대한 작용 메카니즘을 확인하기 위해, 본 발명자는 폐쇄된 상태에서 NMDA 수용체 GluN1-GluN2B 사량체 아형의 막횡단 부위에 대한 결합을 조사하는데 분자 모델링을 사용함으로서 덱스트로메타돈 대사산물이 인실리코(in silico)에서 NMDAR 채널 기공과 잠재적으로 상호작용한다는 가설을 시험하였다. 이러한 인실리코 테스트를 위해 구축된 컴퓨터 NMDAR 아형은 2개의 GluN1 서브유닛 및 2개의 GluN2B 서브유닛으로 구성된 GluN1-GluN2B 사량체이다. 참고로, N2B 서브유닛은 NMDAR을 포함하는 초-복합체의 형성에 필수적이다. 계산의 컴퓨터 효율성을 향상시키기 위해, 수용체의 막 횡단 영역만 모델링되었다. 이는 수용체의 막횡단 영역이 (1) 추정되는 PCP 결합 부위가 위치하는 곳이고, (2) 시험된 FDA-승인 및 임상적으로 내약성이 있는 NMDA 채널 차단제가 (덱스트로메토르판, 케타민, 메만틴) 또한 작용할 가능성이 있는 곳이고, 또한 (3) 본 발명자가 메타돈과 그의 이소형 및 대사산물도 작용할 수 있다고 가정한 곳이기 때문에 수행되었다.

[0798] 본 발명자는 아래의 도표 50에 도시된 약물을 조사하기 위한 컴퓨터 연구를 위한 출발점으로 단백질 데이터 뱅크 (Protein Data BankPDB) 코드 4TLM에 의해 식별된 구조를 사용하였고, 이는 모두 알려진 친화성과 알려진 임상 효과로 막횡단 도메인에서의 PCP 부위에 작용하는 것으로 추정되는 알려진 NMDAR 개방 채널 차단제이다. PCP는 스케줄 I 약물이고 MK-801은 임상 사용을 방해하는 심각한 부작용이 있는 고친화성 NMDAR 채널 차단제이다. 다른 4가지 약물은 적용 전체에 걸쳐 표시된 바와 같이, 다양한 지표에 대해 임상 사용 중이다. 본 예시 8에서 볼 수 있고, 도표 50에 도시된 바와 같이, 시험된 덱스트로메타돈 대사산물에 대한 도킹 점수는 확립된 NMDAR 채널 차단제의 도킹 점수와 유사한 범위에 있다.

표 50

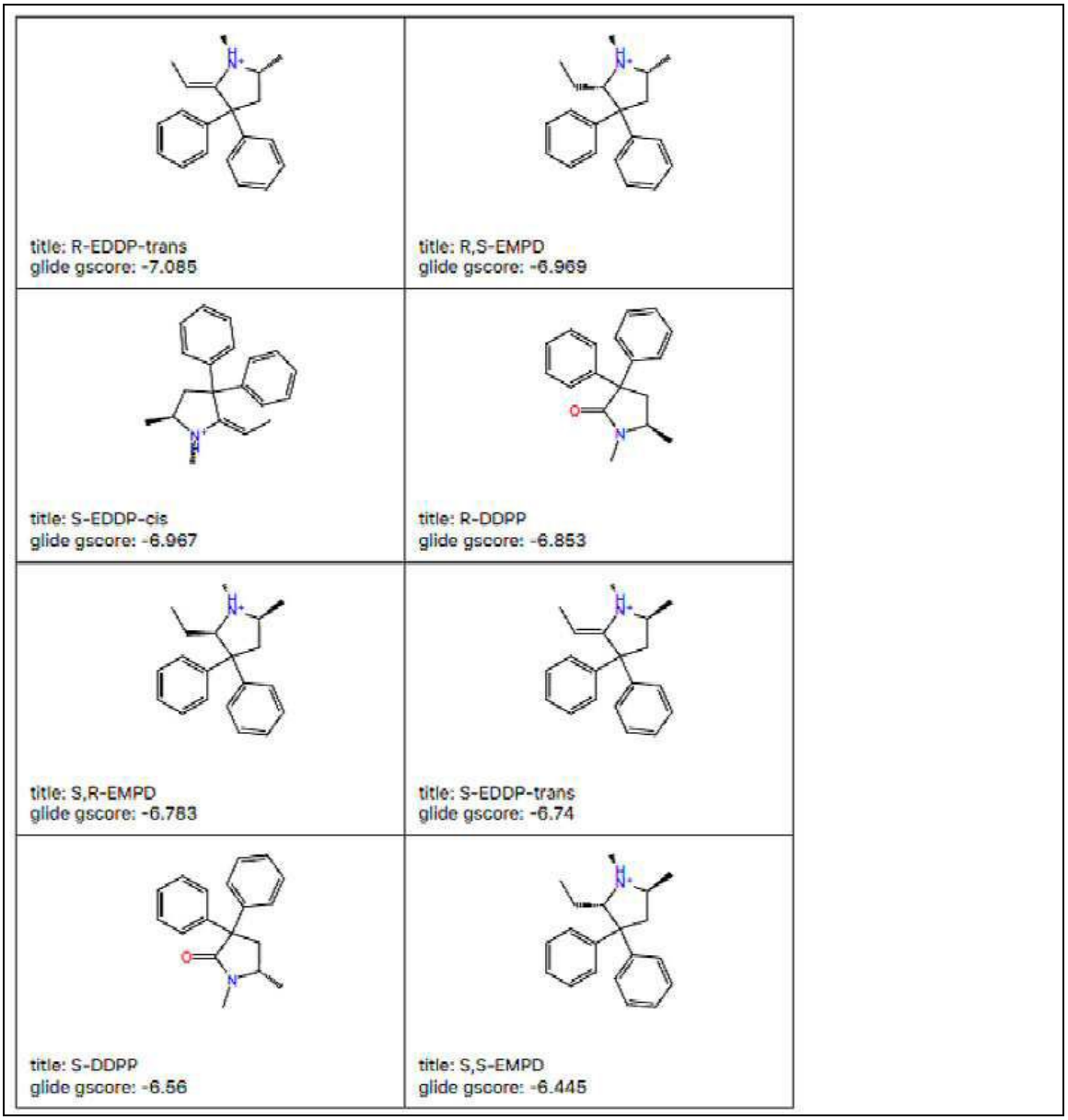
[0799] 도표 50

분자	예측 선호도(도킹) (델타 G, kcal/mol)
MK-801	-6.8
PCP	-6
케타민	-5.8
메만틴	-5.8
아만타딘	-5.8
덱스트로메토르판	-6.3
덱스트로메타돈	-6.5

[0800] 또한, 시험된 모든 대사산물은 알려진 NMDAR 차단 작용을 갖는 화합물과 유사한 범위에서 예측된 친화도 결과를 (아래의 도표 51을 참조) 보여주었다 (상기 도표 50에 도시된 바와 같이, 대략 -5 내지 -7의 예측 친화도). 이러한 인실리코 결과는 덱스트로메타돈 대사산물에 대한 기공 채널에서 잠재적인 NMDAR 차단 효과를 시사한다.

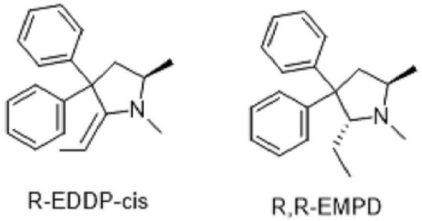
표 51

[0801] 도표 51



[0802] (title : 제목, glide gscore : 글라이드 지스코어)

[0803] 도표 51에 (상기의) 도시된 결과를 볼 때, 도표 50에서의 다른 NMDAR 채널 차단제에 대해 나타낸 점수와 비교하여, 본 발명자는 유사한 대사산물이 유사한 친화성 결과를 나타내게 된다고 제시한다. 이러한 대사산물은 다음을 포함할 수 있지만, 그에 제한되지는 않는다.



[0804]

[0805] **예시 9: 예시 3의 2상 연구로부터의 추가 질병-조절 신호**

[0806] 본 예시 9는 덱스트로메타돈의 효과가 기분 개선에 제한되지 않음을 시사하는 지표의 하위-분석을 제공하여 본

발명자의 입증된 질병-조절 효과를 확증하고, 이는 기분과 같은 한 가지 증상 뿐만 아니라 다른 증상의 개선을 유발할 가능성이 더 크다.

[0807] 예시 3에 제시된 2상 연구 데이터의 하위-분석은 (이후의 MADRS 및 SDQ 개별 및 복합 지표에 대한 환자 데이터를 참조) MDD 및 관련 장애와 여기에 열거된 다른 장애로 질병 및 장애를 치료하기 위한 덱스트로메타돈의 잠재성에 대해 알려준다. 이 데이터는: (1) MDD 환자의 인지 개선 (방향성 효과에 대한 잠재적 신호); (2) 수면 장애에 대한 치료 효과; (3) 사회적 기능에 대한 잠재적 치료 효능; (4) 에너지 및 동기 부여 개선을 포함하여 직장에서 수행하는 능력에 대한 치료 효능; 및 (5) 성기능 장애에 대한 잠재적인 치료 효과를 시사한다. 효과 (1)-(5)는 단순한 증상일 가능성이 낮고 MDD 또는 관련 장애의 일부일 가능성이 있다 (Mini International Neuropsychiatric 인터뷰는 정신과 증상에 대한 의학적, 기질적, 약물 원인을 구체적으로 배제하고, SAFER 인터뷰는 알려진 의학적 원인에 이차적이지 않은 MDD 진단을 확인한다). 증상 치료는 일련의 증상보다는 한 가지 증상에 대해 작용할 가능성이 더 크다. 표준 항우울제는 일반적으로 기분을 개선하지만 동기 부여나 성기능을 개선하지 않는다. 감염에 대한 아스피린은 발열을 개선할 수 있지만 기침이나 다른 감염 특정 증상을 개선하지 않는다. 감염에 대한 항생제는 열을 개선하고 결국 세균성 폐렴으로 인한 기침까지 개선하는 질병 조절 치료법이다.

[0808] A. 개요

[0809] 1. 배경

[0810] REL-1017(덱스트로메타돈 HCl)은 이중 맹검 무작위 다기관 위약 대조 3군 2상 연구에서 25mg 및 50mg의 경구 1일 용량으로 주요 우울 장애(MDD) 환자에서 최근 시험된 N-메틸-D-아스파테이트 수용체(NMDAR) 채널 차단제이다. REL-1017의 두 시험 용량 모두 1일 75mg 또는 100mg의 부하 용량으로 1일 1회 경구 투여한 후 2일차부터 7일차까지 각각 25mg 또는 50mg씩 투여되었다 (예시 3). 두 시험 용량 모두 시험된 모든 척도에 따라 신속하고, 강력하고, 또한 지속적인 효능을 갖는 것으로 밝혀졌다. 주목할만 하게, 두 용량 모두 인지 부작용이나 갑작스러운 중단 시 금단의 증거 없이 양호한 내약성 및 안전성 프로파일을 나타내었다. 기능적 결과 개선의 중요성은 특히 신경정신 질환 분야에서 점점 더 인식되고 있다.

[0811] 2. 목적

[0812] MADRS 및 SDQ 척도의 선택된 기능 지표 부분에 대한 REL-1017의 효과를 분석한다.

[0813] 3. 방법

[0814] 본 발명자는 MADRS 및 SDQ 척도에서 항목을 선택하였고 인지 및 동기 기능의 복합 지수를 생성하였다: 인지 복합 지수: [MADRS 6 (집중 장애), SDQ 16 (각성), SDQ 22 (느린 느낌), SDQ 35 (집중 능력), SDQ 36 (기억 능력), SDQ 37 (단어 찾기 능력), SDQ 38 (선명도), SDQ 39 (결정 능력), SDQ 42 (작업 능력)]; 동기-에너지 복합 지수: [MADRS 7 (무기력), SDQ 7 (동기), SDQ 20 (에너지)]; 기분 복합 지수: [MADRS 1 (보고된 슬픔), SDQ 1,2,3 (기분)]; 수면 복합 지수: [MADRS 4 (수면 감소), SDQ 13 (잠드는 능력), SDQ 14 (한밤중에 잠들 수 있는 능력), SDQ 15 (깨어나기 전 시간에 잠을 잘 수 있는 능력)]. 본 발명자는 또한 SDQ의 두 가지 추가 단일 기능 항목 부분을 별도로 분석하였다: 1) 사회적 기능, 단일 질문 (SDQ 41, 사회적 기능); 2) 성기능, 단일 질문 (SDQ 40, 성기능).

[0815] 4. 통계적 분석

[0816] 치료 온셋 이후 다른 시간에 기준선으로부터의 변화 분석: 적용된 가능성-기반 방법은 치료, 방문 (2일, 4일, 7일, 14일) 및 치료와 방문 간의 상호작용에 대한 고정된 효과 항목을 갖는 혼합-효과 모델 반복 측정(Mixed-Effect Model Repeated Measure, MMRM) 모델이다. LS 평균 및 LS 평균 차이는 (LS 평균에서 REL-1017과 위약 간의 차이) 차이가 없다는 가설 및 코헨(Cohen)의 효과 크기를 (LS 평균 차이 및 합동 표준 편차를 기반으로 계산되는) 테스트하기 위한 p-값과 함께 제공된다. 25mg 및 50mg 용량은 별도로 고려되고 결합된다: 25mg + 50mg, 결합 치료 그룹(Combined Treatment Group, CTG).

[0817] 5. 결과

[0818] 인지 복합 지수: 7일차: 위약 그룹과 비교한 최소-제곱 평균 차이는: 25mg 치료 그룹에서 -10,23 (p 값 0,1; 효과 크기 0,49), 50mg 치료 그룹에서: -11,41 (p 값 0,07; 효과 크기 0,53), CTG, 25mg + 50 mg에서 : -10,85 (p 값 0,05; 효과 크기 0,51), 14일차: 위약 그룹과 비교한 최소-제곱 평균 차이는: 25mg 치료 그룹에서: -14,71 (p 값 0,01; 효과 크기 0,86), 50mg 치료 그룹에서: -20,61 (p 값 0,0008; 효과 크기 1,15), CTG, 25mg

+ 50mg에서: -17,83 (p 값 0,0009; 효과 크기 1,02)이다. 동기 복합 지수: 7일차: 위약 그룹과 비교한 최소-제곱 평균 차이는: 25 mg 치료 그룹에서 -17,37 (p 값 0.02; 효과 크기 0.73); 50mg 치료 그룹에서: -17,41 (p 값 0,01; 효과 크기 0,74); CTG, 25mg + 50mg에서: -17,39 (p 값 0,006; 효과 크기 0,74); 14일차: 위약 그룹과 비교한 최소-제곱 평균 차이는: 25 mg 치료 그룹에서: -26,5 (p 값 0,0003; 효과 크기 1,33); 50 mg 치료 그룹에서: -26,27 (p 값 0,0002; 효과 크기 1,34); CTG, 25mg + 50mg에서: -26,38 (p 값 0,000029; 효과 크기 1,35)이고; 기분 복합 지수, 7일차: 위약 그룹과 비교한 최소-제곱 평균 차이는: 25mg 치료 그룹에서 -12,3 (p 값 0.08; 효과 크기 0.51); 50 mg 치료 그룹에서: -16,1 (p 값 0,02; 효과 크기 0,72); CTG, 25mg + 50mg에서: -14,3 (p 값 0,02, 효과 크기 0,62); 14일차: 위약 그룹과 비교한 최소-제곱 평균 차이는: 25mg 치료 그룹에서: -16,5 (p 값 0.02; 효과 크기 0.71); 50 mg 치료 그룹에서: -18,0 (p 값 0,01, 효과 크기 0,85); CTG, 25mg + 50mg에서: -17,3 (p 값 0,006, 효과 크기 0,79)이고: 수면 복합 지수, 7일차: 위약 그룹과 비교한 최소-제곱 평균 차이는: 25mg 치료 그룹에서 -6,6 (p 값 0.44; 효과 크기 0.22); 50 mg 치료 그룹에서: -9,18 (p 값 0,27; 효과 크기 0,38); CTG, 25mg + 50mg에서: -7,96 (p 값 0,27; 효과 크기 0,3); 14일차: 위약 그룹과 비교한 최소-제곱 평균 차이는: 25mg 치료 그룹에서: -21,7 (p 값 0,001; 효과 크기 1,09); 50mg 치료 그룹에서: -21,7 (p 값 0,0009; 효과 크기 1,2); CTG, 25mg + 50mg에서: -21,74 (p 값 0,0001; 효과 크기 1,17)이다. 사회적 기능, 단일 질문(SDQ 41, 사회적 기능), 7일차: 위약 그룹과 비교한 최소-제곱 평균 차이는: 25mg 치료 그룹에서: -1,07 (p값 0.04; 효과 크기 0.65); 50mg 치료 그룹에서: -1 (p값 0.05; 효과 크기 0,57); CTG, 25mg + 50mg에서: -1,034 (p 값 0,021; 효과 크기 0,61); 14일차: 위약 그룹과 비교한 최소-제곱 평균 차이는: 25mg 치료 그룹에서: -1,246 (p 값 0,003; 효과 크기 0,99); 50mg 치료 그룹에서: -1,137 (p 값 0,006; 효과 크기 0,98); CTG, 25mg + 50mg에서: -1,19 (p 값 0,00091 효과 크기 0,99)이다. 성 기능, 단일 질문 (SDQ 40, 성기능): 25mg 치료 그룹에서: -0,66 (p 값 0,15; 효과 크기 0,48); 50 mg 치료 그룹에서: -0,28 (p 값 0,52; 효과 크기 0,19)

[0819] CTG, 25mg + 50mg에서: -0,46 (p 값 0,23; 효과 크기 0,32); 14일차: 위약 그룹과 비교한 최소-제곱 평균 차이는: 25mg 치료 그룹에서: -1,32 (p 값 0,006; 효과 크기 0,93); 50 mg 치료 그룹에서: -0,4 (p 값 0,35; 효과 크기 0,29)

[0820] CTG, 25mg + 50mg에서: -0,86 (p 값 0,037; 효과 크기 0,59)이다.

[0821] 6. 결론

[0822] MDD 환자에서, 시험된 모든 척도에서 위약과 비교하여 전체 CFB를 개선하는 것 외에도, REL-1017(덱스트로메타돈)은 인지, 동기 부여, 사회적, 및 성 기능에서 신속하고, 임상적으로 의미있고, 지속적이고, 또한 통계적으로 의미있는 개선을 제공하였다. MDD에 대한 REL-1017의 신속하고, 강력하고, 또한 지속적인 효능은 기분 개선에 제한되지 않고, 질병 조절 메카니즘을 기반으로 하는 작용 메카니즘을 확증하는 것 이외에, 잠재적으로 의미있는 사회경제적 의미를 지닌 인지, 동기 부여, 사회적 및 성 기능으로 확장된다. 이러한 고무적인 결과는 덱스트로메타돈의 잠재적인 질병 조절 효과를 시사하고 표준 항우울제 치료에 비해 잠재적인 이점을 시사한다.

[0823] B. MDD: 디지털 애플리케이션을 사용한 NMDAR 채널 차단제의 약용량학 커스터마이징

[0824] PK/PD 관계의 데이터 및 단일 환자 반응의 하위-분석을 포함하는 2상 시험의 데이터는 (예시 3) 잠재적으로 2일 또는 그 이전에 시작되는 치료 효능, 및 효과 및/또는 지속가능성/반응 기간의 광범위한 피시험자-간 크기 가변성을 제시한다.

[0825] 개인의 필요에 가장 잘 맞는 치료를 커스터마이징하기 위해, 본 발명자는 환자의 증상 및 징후를 모니터링하고 개별 환자에 대한 적절한 용량 및 치료 기간에 대해 실시간으로 간병인, 심지어 환자 또는 그의 친척에게 알려주는 디지털 애플리케이션과 덱스트로메타돈 치료와의 결합을 개시한다. 다른 질문 및 지침 중에서, 디지털 애플리케이션은 2상 연구 (예시 3) 및 다른 덱스트로메타돈 시험 동안 (Bernstein 등. 2019; Moryl 등, 2016), 특히 덱스트로메타돈 치료에 의해 영향을 받는 것으로 밝혀진 질문에서 (예시 3 및 본 예시 9) MDD 환자에게 시행된 설문지에서 유도된 하나 이상의 질문 및 수정 사항을 활용할 수 있다: ATRQ, 항우울제 치료 반응 설문지; CADSS, 임상의 관리 해리 상태 척도; CGI-I, 개선에 대한 임상적 글로벌 인상; CGI-S, 심각도의 임상적 글로벌 인상; COWS, 임상 아편제 금단 척도; C-SSRS, 컬럼비아-자살 심각도 평가 척도; HAM-D-17, 해밀턴 우울증 등급 척도-17; IWRS, 대화형 웹 응답 시스템; MADRS, 몽고메리-애스버그(Montgomery-Asberg) 우울증 등급 척도; MGH, 매사추세츠 종합 병원 MINI, 미니 국제 신경정신과 인터뷰; SDQ, 우울증의 증상 설문지; BPI, 간단한 정신과 인터뷰; ESAS, 에드먼턴 증상 평가 척도; VAS, 시각적 아날로그 척도; MGH-CPFQ = 매사추세츠 종합병원 - 인지 및 신체 기능 설문지; 숫자 기호 대체 테스트(DSST); 쉬한 장애 척도(SDS); 및 본드-레이더(Bond-Lader) 척

도.

[0826] C. 진단 도구 및 약물 선택 도구로서의 방사성 표지된 NMDAR 채널 차단제

[0827] 병리학적 NMDAR 수용체 활성화는 (NMDAR 과활성) 특정 뉴런 또는 뉴런외 집단에 대해 선택적일 수 있고, 다수의 질병 및 장애를 촉발, 악화 또는 유지할 수 있다. NMDAR 과활성은 정상보다 높은 수준의 글루타메이트 및/또는 PAM 및/또는 작용제 물질로 인해 발생될 수 있고 NMDAR 채널 차단제, 예를 들어 덱스트로메타돈에 의해 교정될 수 있다 (예시 1 및 5를 참조).

[0828] 방사성 표지된 덱스트로메타돈 및/또는 아편유사제 수용체에 대한 친화도가 낮은 다른 NMDAR 채널 차단제의 분포 패턴은 MDD 또는 다른 신경정신 장애 또는 추가 CNS 질환에 대한 진단이 될 수 있다. 단독으로 또는 심지어 아편유사제 작용제 또는 길항제와 함께 투여된 방사성 표지된 덱스트로메타돈 및/또는 아편유사제 수용체에 대한 친화도가 낮은 다른 NMDAR 채널 차단제의 분포 패턴은 엔돌핀 시스템의 비-뉴런 세포 부분을 포함하여, 선택 뉴런의 (또는 다른 셀) 과활성화에 인한 선택 질병에 대한 진단이 될 수 있다. 덱스트로메타돈의 경우, 날록손의 투여는 NMDAR 및 아편유사제 수용체 이외의 수용체가 중심이 되는 특정 질병과 관련된 다른 시스템 또는 경로 또는 회로의 일부 및 엔돌핀 경로 외부에서 방사성 표지된 덱스트로메타돈의 특정 분포를 검출하도록 허용할 수 있다. 따라서, 방사성 표지된 덱스트로메타돈 및/또는 다른 NMDAR 채널 차단제의 분포 패턴은 환자의 질병 및 장애를 진단하기 위한 진단 도구로 사용될 수 있다. 방사성 표지된 덱스트로메타돈 및/또는 아편유사제 수용체 및/또는 방사성 표지된 연구 약물에 대한 친화도가 낮은 다른 방사성 표지된 NMDAR 채널 차단제의 분포 패턴은 효과적인 질병-조절 약물을 선택하기 위한 약물 선택 도구로 사용될 수도 있다.

[0829] D. 자기 공명 분광법 및 다른 방사선 기술을 진단 도구 및 약물 선택 도구로 NMDAR 채널 차단제와 결합

[0830] 자기 공명 분광법(MRS)은 잠재적으로 증가된 글루타메이트 및 병리학적 NMDAR 수용체 활성화와 연관된 질병의 메카니즘을 이해하는데 사용되었다. NMDAR 과활성은 특정한 신경 세포 (또는 심지어 신경 세포 외) 집단에 대해 선택적일 수 있고 다양한 질병 및 장애를 유발, 악화 또는 유지할 수 있다. NMDAR 과활성은 글루타메이트 및/또는 PAM 및/또는 작용제 물질의 정상보다 높은 수준으로 인해 발생될 수 있고 NMDAR 채널 차단제, 예를 들면 덱스트로메타돈에 의해 교정될 수 있다 (예를 들면, 예시 1 및 5).

[0831] 덱스트로메타돈 및/또는 다른 NMDAR 채널 차단제에 의한 MRS 결과의 조절은 환자의 질병 및 장애를 진단하고 치료 효능을 따르기 위한 진단 도구로 사용될 수 있다. 덱스트로메타돈 및/또는 다른 NMDAR 채널 차단제, 특히 연구 약물에 의한 MRS 결과의 조절은 효과적인 질병-조절 약물을 선택하기 위한 약물 선택 도구로 사용될 수 있다.

[0832] E. NMDAR 및 추가 CNS 질병 및 장애

[0833] CNS, PNS 및 특정 특수 수용체를 제외하고, 말초 NMDAR은 또한 호흡기, 심혈관 및 비뇨생식기 계통의 일부인 세포와 간세포, 랑게르한스 세포 및 면역계 세포를 포함한 대부분의 세포의 막에서 [Du 등, 2016; Dickens 등, 2004; McGee MA, Abdel-Rahman AA. 심혈관 조직에서 N-메틸-D-아스파테이트 수용체 시그널링 및 기능 (N-Methyl-D-Aspartate Receptor Signaling and Function in Cardiovascular Tissues). J Cardiovasc Pharmacol. 2016;68(2):97-105; Miglio G, Varsaldi F, Lombardi G. 인간 T 림프구는 T 세포 활성화를 제어하는데 기능적으로 활성인 N-메틸-D-아스파테이트 수용체를 발현한다 (Human T lymphocytes express N-methyl-D-aspartate receptors functionally active in controlling T cell activation). *Biochem Biophys Res Commun*. 2005;338(4):1875-1883], 또한 혈소판에서 입증되었다 [Kalev-Zylinska ML, Green TN, Morel-Kopp MC, 등. N-메틸-D-아스파테이트 수용체는 인간 혈소판의 활성화 및 응집을 증폭시킨다 (N-methyl-D-aspartate receptors amplify activation and aggregation of human platelets). Thromb Res. 2014;133(5):837-847]. 질병 및 장애는 말초 NMDAR의 과활성화로 인해 발생할 수 있다 [Du 등, 2016; Ma 등, 미토콘드리아 기능장애, 산화 스트레스 및 염증을 통한 여러 말초 기관의 병인에서 NMDA 수용체의 과도한 활성화 (Excessive activation of NMDA receptors in the pathogenesis of multiple peripheral organs via mitochondrial dysfunction, oxidative stress, and inflammation). SN Comprehensive Clinical Medicine (2020) 2:551-569].

[0834] 본 발명자의 개시를 기반으로 (예시 1-11을 포함하여), NMDAR 차단 작용을 통해 MDD와 같은 질병에 임상적으로 의미있는 치료 효과를 지닌 내약성이 매우 높고 안전한 약물인 덱스트로메타돈은 인지 부작용 및 남용 가능성이 없는 경우, 말초, 추가 CNS, NMDAR을 포함한 NMDAR의 과활성화로 인한, Du 등, 2016 및 Ma 등, 2020 에 의해 열거된 질병 및 장애를 포함하는 (이러한 질병 및 장애는 여기서 참조로 포함된다) 질병 및 장애를 예방, 치료 및 진단하는데 잠재적으로 유용할 수 있다. 특히, 말초 NMDAR의 과활성화로 인한 바이러스 감염을 포함한 감염

으로 인한 두통 및 GI 증상을 포함한 신체 통증은 덱스트로메타돈으로 완화될 수 있다.

[0835] 실험적 쥐 모델에서, 덱스트로메타돈은 진통제가 아니지만 (핫 플레이트 잠복기), 날록손 투여에 의해 영향을 받지 않는 비장세포 증식을 (레보메타돈 보다 훨씬 많이) 억제하고, 이는 면역 조절 효과에 대한 비-아편유사제 매개 메카니즘을 시사한다 [Hutchinson MR, Somogyi AA. (S)-(+)-메타돈은 강력한 진통제인 (R)-(--)-메타돈보다 면역억제적이다 ((S)-(+)-methadone is more immunosuppressive than the potent analgesic (R)-(--)-methadone). Int Immunopharmacol. 2004;4(12):1525-1530]. 또한, 레보메타돈의 활성은 덱스트로메타돈의 이러한 효과를 감소시킨다. 예시 1 및 본 출원에 요약된 다른 관찰을 기반으로, 본 발명자는 이러한 면역-조절 작용이 NMDAR에서 의미있는 PAM 작용 없이, 덱스트로메타돈의 NMDAR 차단으로 인한 것이라고 가정한다.

[0836] 또 다른 연구에서 [Toskulkao T, Pornchai R, Akkarapatumwong V, Vatanatunyakum S, Govitrapong P. 메타돈 유지 피시험자에서 림프구 아편유사제 수용체의 변경 (Alteration of lymphocyte opioid receptors in methadone maintenance subjects). Neurochem Int. 2010;56(2):285-290], 만성 아편제 노출은 인간 림프구에서 G-단백질 결합 아편유사제 수용체 유전자 발현의 하향 조절과 연관되었다. Taskulkao 등. 2010년 연구에 따르면, 아편제가 림프구에 존재하는 아편유사제 수용체 수의 변화를 유도하는 메카니즘은 아편제가 표적 뉴런에서 내성 및 의존성을 유도하는 메카니즘 중 하나와 유사할 수 있다. 본 개시를 기반으로, 본 발명자는 면역세포 수용체 조절을 위한 메카니즘이 또한 NMDAR 차단과 잠재적으로 관련되어 있음을 제시한다.

[0837] 마지막으로, He 등을 기반으로 [He L, Kim J, Ou C, McFadden W, van Rijn RM, Whistler JL. 메타돈 항통각수용성은 말초 아편유사제 수용체에 의존한다 (Methadone antinociception is dependent on peripheral opioid receptors). J Pain. 2009;10(4):369-379], 메타돈의 항통각수용 효과는 CNS에서 주로 작용하는 모르핀(레보모르핀)과 대조적으로, 주로 말초적이다 (중앙으로 투여된 날록손 메티오다이드에 의해 차단되지 않는). 메타돈의 이러한 말초 작용은 염증 세포에 의해 발현되는 NMDAR, NMDAR에서 활성이 아닌 레보모르핀에 의해 공유되지 않는 작용을 포함하여 (Gorman 등, 1997), 잠재적으로 아편유사제 수용체에 결합된 말초 수용체의 NMDAR 차단과 관련이 있다 [Narita M, Hashimoto K, Amano T 등. 쥐 시상에서 내림차순 항통각수용성 경로와 관련된 글루타메이트성 신경 전달에 대한 모르핀의 시냅스 후 작용 (Post-synaptic action of morphine on glutamatergic neuronal transmission related to the descending antinociceptive pathway in the rat thalamus). J Neurochem. 2008;104(2):469-478; Rodriguez-Munoz M, Sanchez-Blazquez P, Vicente-Sanchez A, Berrocoso E, Garzon J. PAG 뉴런에서 뮤-아편유사제 수용체와 NMDA 수용체 연관: 통증 조절에 미치는 영향 (The mu-opioid receptor and the NMDA receptor associate in PAG neurons: implications in pain control). *Neuropsychopharmacology*. 2012;37(2):338-349]. 따라서, 상기에 도입되고 예시 10에 상세히 설명된 쉐퍼딩 친화성은 또한 덱스트로메타돈이 면역 세포를 포함하는 아편유사제 수용체를 갖는 말초 세포를 표적화하도록 지시할 수 있다.

[0838] 또한, 글루타메이트는 혈소판에 밀집한 과립에 저장되고 혈전 형성 동안 다량이 (>400μM) 방출된다. NMDAR 작용제는 혈소판 활성화 및 응집을 촉진하고 NMDAR 채널 차단제는 이를 억제한다. 혈소판에 NMDAR 전사체가 존재하는 것은 (Kalev-Zylinska 등, 2014) NMDAR 발현을 조절하는 혈소판 능력을 의미한다. 유세포분석 및 전자현미경은 활성화되지 않은 혈소판에서, NMDAR 서브유닛이 혈소판 내부에 포함되지만 혈소판 활성화 이후 혈소판 수포, 필로포디아 및 미세입자로 재배치됨을 입증한다 (Kalev-Zylinska 등, 2014).

[0839] 파종성 혈관내 응고(DIC)는 혈액 응고가 몸 전체에 형성되어 심장, 폐, 간, 신장, 뇌 등과 같은 기관 및 시스템에 영향을 미치는 작은 혈관을 차단하는 상태이다. 증상은 흉통, 숨가쁨, 다리 통증, 말하기 문제, 또는 신체 일부를 움직이는 문제를 포함할 수 있다. 응고 인자와 혈소판이 소진되면 출혈이 발생할 수 있다. 이는 소변의 출혈, 대변의 혈액, 또는 피부 출혈을 포함할 수 있다. 합병증은 다기관 부전을 포함한다. 비교적 흔한 원인으로는 감염, 수술, 주요 외상, 화상, 암, 임신 합병증 등이 있다. 급성 (빠른 온셋) 및 만성의 (느린 온셋) 두 가지 주요 유형이 있다. 진단은 일반적으로 혈액 검사를 기반으로 한다. 소견에는 낮은 혈소판, 낮은 피브리노겐, 높은 INR, 또는 높은 D-dimer가 포함될 수 있다. 치료는 주로 기저 질환에 대한 것이다. 다른 측정에는 혈소판, 동결 침전물, 또는 신선 동결 혈장의 제공이 포함될 수 있다. 그러나, 이러한 치료법을 지원하는 증거는 부족하다. 헤파린은 천천히 발달하는 형태에 유용할 수 있다. 병원에 입원한 사람들의 약 1%가 이 상태에 의해 영향을 받는다. 패혈증 환자의 경우, 사망률이 20%에서 50% 사이로, 사망률이 높다. Kalev-Zylinska 등, 2014을 기반으로, DIC는 혈소판에서 발현되는 NMDAR의 과활성화에 의해 유발, 유지 또는 악화될 수 있다. 덱스트로메타돈 및 다른 NMDAR 채널 차단제 및 그 대사산물은 과활성화된 혈소판 NMDAR을 차단함으로서, DIC 예방 및 치료에 잠재적으로 유용할 수 있다 (예시 1-11).

[0840] F. COVID 19

[0841] DIC는 대부분의 COVID-19 사망자와 관련이 있다 (Wang J, Hajizadeh N, Moore EE 등. COVID-19 관련 급성 호흡곤란 증후군(ARDS)에 대한 조직 플라스미노겐 활성제(tPA) 치료 (Tissue Plasminogen Activator (tPA) Treatment for COVID-19 Associated Acute Respiratory Distress Syndrome (ARDS)): A Case Series [published online ahead of print, 2020 Apr 8]. *J Thromb Haemost*. 2020;10.1111/jth.14828. doi:10.1111/jth.14828).

[0842] COVID-19 환자의 서브세트는 생명을 위협하는 합병증을 일으키게 된다. 고령 환자, 남성 환자, 또한 호흡기, 심혈관 및 대사 동반 질환이 있는 환자는 위험이 더 높다. 동반 질환과 고령은 COVID-19 합병증 및 사망의 위험 증가와 관련이 있지만, 개인 간 결과가 매우 다양하게 결정되는 병태생리학적 메카니즘은 불분명하다.

[0843] NMDAR은 면역, 호흡기, 심혈관, 신장, 뉴런 및 혈소판을 포함한 모든 시스템의 세포막에서 발현된다. NMDAR 과활성은 폐, 심혈관, 신장, 대사, CNS 및 응고 병리와 연관된다. NMDAR 채널 차단제는 다양한 요인에 의해 유발되는 급성 폐 손상을 현저하게 약화시킨다 (Du 등, 2016; Dickman KG, Youssef JG, Mathew SM, Said SI. 폐 및 기도의 이온성 글루타메이트 수용체: 글루타메이트 독성에 대한 분자적 기초 (Ionotropic glutamate receptors in lungs and airways: molecular basis for glutamate toxicity). Am J Respir Cell Mol Biol. 2004;30(2):139-144). DIC는 대부분의 COVID-19 사망자와 관련이 있을 수 있다 (Wang 등, 2020). 글루타메이트는 혈소판에 저장되었다가 혈전이 형성되는 동안 방출된다. NMDAR 작용제는 혈소판 활성화 및 응집을 촉진하고 NMDAR 채널 차단제는 이를 억제한다 (Kalev-Zylinska 등, 2014).

[0844] 비정상적인 면역학적 반응은 COVID-19를 포함하여, 감염 환자의 합병증 위험과 관련이 있다. 덱스트로메타돈은 면역계의 일부 세포에 의해 발현되는 수용체의 NMDAR 차단과 잠재적으로 관련된 면역계 조절 효과를 갖는다 (He 등, 2004; Hutchinson 등, 2009; Toskulkao 등, 2009).

[0845] NMDAR의 과활성은 양성 알로스테릭 조절제, 작용제, 외인성 (예를 들면, 약물 및/또는 독소) 및/또는 감염으로 인한 염증을 포함하여 염증에서 증가된 대사 경로의 중간체에 (예를 들면, 퀴놀린산) 의해 향상될 수 있다. 바이러스 감염 (COVID-19를 포함한) 동안 생성되고 또한/또는 방출된 물질, 또는 항바이러스제를 포함한 약물을 포함한 다양한 염증 물질은 잠재적으로 NMDAR의 양성 알로스테릭 조절제 및 작용제로 작용하여 합병증을 유발, 유지 또는 악화시킨다.

[0846] 환자의 서브세트에서, COVID-19의 합병증은 다양한 세포 집단과 혈소판에서 NMDAR의 과활성화에 의해 유발, 유지 또는 악화될 수 있다. 덱스트로메타돈 및 다른 NMDAR 비경쟁 채널 차단제는 혈소판에서 (Kalev-Zylinska 등, 2014) 또한, 면역계, 호흡기계, 심혈관계, 신장계, 간, 췌장 및 CNS를 포함한 위장 및 대사계의 일부 세포막에서 발현되는 과활성 N-메틸-D-아스파테이트 수용체(NMDAR)를 통한 Ca^{2+} 유입을 하향 조절함으로서, COVID-19 환자에서 염증, 호흡기, 심혈관, 위장, CNS, 대사 및 응고 (예를 들어, DIC) 합병증을 완화시킬 수 있다 (Du 등, 2016; Dickens 등, 2004; Mcgee 등, 2016; Welters A, Lammert E, Mayatepek E, Meissner T. 더 나은 당뇨병 치료의 필요성: NMDA 수용체 길항제의 치료 가능성 (Need for Better Diabetes Treatment: The Therapeutic Potential of NMDA Receptor Antagonists). Bessere Diabetesmedikamente sind erforderlich: therapeutisches Potenzial von NMDAR Antagonisten. *Klin Padiatr*. 2017;229(1):14-20; Miglio et al., 2005).

[0847] 최근 온라인 간행물은 이탈리아 Rome, Villa Maraini에 있는 아편유사제 유지 관리시설에서 추적한 아편유사제 중독 집단의 COVID-19 합병증의 결여를 시사한다 ("Coronavirus, i tossicodipendenti sembrano immuni: l'ipotesi degli esperti di Villa Maraini-Cri" Il Messaggero, May 4, 2020, Caltagirone Editore). 저자는 이 발견을 이러한 환자의 비정상적인 면역 체계 탓으로 돌리지만, 본 발명자의 발견 및 개시를 고려하여, 본 발명자는 라세미 메타돈에 의해 부여된 COVID-19 합병증에 대한 보호가 그 NMDAR 채널 차단 활성으로 인한 것일 수 있음을 개시한다. 예시 7에 설명된 바와 같이, 덱스트로메타돈은 메타돈에 비해 향상된 면역조절 작용을 제공할 수 있고, 보다 중요하게, 라세미 메타돈의 아편유사제 효과를 갖지 않는다는 이점이 있다.

[0848] 기존의 동반 질환이 있는 환자는 영향을 받는 시스템, 기관 및 조직의 일부 세포에서 NMDAR 과활성으로 인해 더 취약할 수 있다 (Du 등, 2016).

[0849] NMDAR 채널 차단제와 같은 합병증의 발병을 예방할 수 있는 약물로 접근될 수 있는 증상의 온셋 및 합병증의 발병 사이에 유리한 시간적 치료 창이 있을 수 있다.

[0850] 매우 어린 환자에게서 볼 수 있는 COVID-19 합병증에 대한 상대적 보호에 관한 한가지 잠재적인 설명은 성인과 비교하여 젊은 피시험자에서 볼 수 있는 발달 연령 차등 NMDAR 프레임워크에 있다 (Hansen 등, 2017; Swanger SA 및 Traynelis SF. 시냅스 수용체 다양성이 공간과 시간에 걸쳐 밝혀졌다 (Synaptic Receptor Diversity Revealed Across Space and Time). Trends in Neurosciences, August 2018, Vol. 41, No. 8: 763-765). 따라서, 젊은 환자는 염증 매개체, PAM 및/또는 작용제 및/또는 COVID-19에 의해 유도된 과도한 글루타메이트 세포외 농도에 의한 NMDAR 과활성화에 덜 민감할 수 있다. 참고로, 글루타메이트 및 글루타메이트 작용제는 (NMDAR의 글루타메이트 부위에서 작용제로 작용하는 물질) 어린 GluN3A 서브유닛에서 작용제가 아니므로 (이 서브유닛에는 글루타메이트 작용제 부위가 없다), 이러한 서브유닛을 갖는 NMDAR 아형은 글루타메이트에 (예를 들면, 디-헤테로머 GluN1-GluN3)에 둔감하거나 글루타메이트 (예를 들면, 트리-헤테로머 GluN1-GluN2-GluN3) 및 NMDA 부위에서의 다른 작용제에 대해 상대적으로 둔감하다. 칼슘 투과성이 낮거나 글루타메이트에 둔감하거나 덜 민감한 NMDAR 아형은 세포가 글루타메이트 부위의 PAM 및 작용제로 인한 흥분 독성을 포함하여 흥분 독성에 덜 취약하게 만들 수 있다. NMDAR 아형을 포함하는 GluN3A 서브유닛은 Ca^{2+}에 대해 투과성이 적거나 (트리-헤테로머, 예를 들어 GluN1-GluN2-GluN3) 또는 불투과성이다 (예를 들어, GluN1-GluN3) (Roberts, A. C. 등. 시냅스 성숙 및 기억 통합을 위해서는 NR3A 함유 NMDAR의 하향 조절이 요구된다 (Downregulation of NR3A-containing NMDARs is required for synapse maturation and memory consolidation). Neuron 63, 342-356 (2009)). 따라서, NMDAR 프레임워크가 성인의 NMDAR 프레임워크에 비해 Ca^{2+} 전류의 영향을 덜 받기 때문에, GluN3 서브유닛을 포함하는 NMDAR의 발현이 더 높은 환자, 예를 들어 소아 환자는 NMDAR을 통한 Ca^{2+} 유입 증가에 의해 유발되는 합병증으로부터 상대적으로 보호될 수 있다 (예를 들면, DIC, 호흡기, 심장, 신장, 대사 합병증). 성별과 관련된 차등 NMDAR 프레임워크는 또한 남성에 비해 여성 환자에서 볼 수 있는 COVID-19 합병증의 부담이 더 적음을 설명할 수 있다.

[0851] 개방 채널 NMDAR 채널 차단제 (덱스트로메타돈 및 다른 아편유사제의 선택 이소형, 대사산물 및 유도체, 케타민 및 메만틴 및 아만타딘) 및 특히, Ca^{2+}를 선택적으로 차단함으로서 유효한 용량에서 [과활성 NMDAR을 통한 유입 (예시 1-11)] 유리한 안전성, 내약성, PK 프로파일을 갖는 덱스트로메타돈은 COVID-19 및 상기에 열거된 DIC의 다른 원인으로부터 DIC, 또한 면역학적 (염증 반응), 호흡기 (기침, 폐 염증, ARDS, 호흡 부전), 심혈관 (HTN, 허혈성 심장 질환 및 심부전), 대사 (내당능 장애 및 당뇨병), 신장 (신부전) 및 신경계 합병증을 (미각 및 후각 결핍, 두통, 신경정신병 결핍, CVA) 포함하는 다른 COVID-19 합병증을 완화, 치료 및/또는 예방할 수 있다.

[0852] 또한, 덱스트로메타돈 및 다른 NMDAR 비경쟁 채널 차단제는 NMDAR에서 양성 알로스테릭 조절 또는 작용제 효과가 있는 분자를 사용하여 항바이러스제 또는 다른 요법으로 인한 NMDAR 매개 합병증을 예방할 수 있다 (Hama R, Bennett CL. 오셀타미비르에 대한 돌연발현형 이상반응의 메카니즘 (The mechanisms of sudden-onset type adverse reactions to oseltamivir). Acta Neurol Scand. 2017;135(2):148-160).

[0853] PAM인 겐타마이신에 의해 잠재적으로 유발되는 내이의 유모 세포에 대한 NMDAR 매개 독성과 유사하게 (예시 5), COVID-19와 연관된 후각 및 미각 상실은 NMDAR에서 PAM 및/또는 작용제의 존재 여부에 관계없이 바이러스 또는 치료에 의해 유발된 특수 감각 후각 세포에서 NMDAR 매개 독성을 시사할 수 있다.

[0854] 덱스트로메타돈 및 그 설폰 유도체는 증상적으로 기침을 치료할 수 있다 (Winter CA, Flataker L. 개의 d-이소메타돈 및 d-메타돈의 진해 작용 (Antitussive action of d-isomethadone and d-methadone in dogs). Proc Soc Exp Biol Med. 1952;81(2):463-465; Noel, Peter R et General Practitioner Research Panel. ≪ The sulphone analogue of d-methadone: Assessment of antitussive activity in general practice(d-메타돈의 설폰 유사체: 일반적인 진해 활성 평가) ≫, British Journal of Diseases of the Chest. 1963, vol.57 no 1. p. 48-52). 본 발명자의 개시를 기반으로, 기침에 대한 유효성은 증상이 있을 뿐만 아니라 병원체에 대한 진입 포트 옆에 있는 세포에 대한 NMDAR에서의 질병-조절 치료 효과를 시사할 수 있다. 참고로, COVID-19 환자의 서브세트에서, 주요 증상은 호흡기가 아니라 위장이며, 이러한 환자의 경우, 덱스트로메타돈은 위장 증상(GI)의 증상적 치료를 제공할 수 있다. 그러나, 기침의 경우와 같이, GI 치료는 단순히 증상이 있는 것이 아니라 질병의 합병증을 유발하는 GI 관의 아편유사제 수용체와 결합된 과자극된 NMDAR 수용체를 차단함으로서 잠재적으로 질병을 조절할 수 있다.

[0855] 덱스트로메타돈의 작용 메카니즘은 장기, 조직 및 시스템의 일부인 세포에서 발현되는 과자극된 NMDAR을 통해, 특히 면역 세포막 (염증 반응), 호흡기계 세포 (기도 염증), 심장 및 혈관 세포 (HTN 및 심부전), 랑게르한스 및 간 세포 (내당능 장애 및 당뇨병 및 간 기능 부전), GI 세포, 신장 (신장 장애) 및 NS 세포 (특수 감각 장애

를 포함한 신경정신병적 증상), 세포 시상하부-뇌하수체 부신 축 (과아드레날린성 상태) 및 혈소판 (DIC)의 일부에서 발현되는 과자극된 NMDAR을 통해, 과도한 Ca^{2+} 유입의 하향 조절을 유지한다. 케타민 IV는 진정 목적과 COVID-19 합병증의 치료 및 예방을 위한 NMDAR 채널 차단제 작용을 위해 기계적으로 환기되는 환자에게 진정 해리 용량으로 사용될 수 있다. 덱스트로메타돈은 COVID-19 합병증을 예방 및 치료하는데 사용할 수 있고 또한 진해 효과도 발휘하게 된다. 상기에 개요가 설명되고 예시 7의 발견에서 확인된 바와 같이, 라세미 메타돈에 대해 설명된 면역 조절 작용은 (Toskulkao T, Pornchai R, Akkarapatumwong V, Vatanatunyakum S, Govitrapong P. 메타돈 유지 환자에서 림프구 아편유사제 수용체의 변경 (Alteration of lymphocyte opioid receptors in methadone maintenance subjects). Neurochem Int. 2010;56(2):285-290) 덱스트로메타돈에 대해 훨씬 더 뚜렷될 수 있고 (Hutchinson 등, 2004), 예시 3에서 확인된 바와 같이, 아편유사제 및 정신분열 효과가 없기 때문에 임상적으로 유용할 수 있다. 이러한 면역 조절 효과는 MDD 및 신경정신병 장애, 자가면역 장애, COVID-19 합병증을 포함한 감염 장애에 대한 치료 작용을 제공하는 것 외에도, 암 및 그 합병증에 대한 치료도 될 수 있다.

[0856] 덱스트로메타돈은 또한 예를 들어, 바이러스 기공 채널을 차단함으로서, 아만타딘 및 메만틴과 같은 다른 NMDAR 비경쟁적 채널 차단제의 효과와 유사하게, 항바이러스 효과를 가질 수 있다.

[0857] 또한, 말초 NMDAR에서 덱스트로메타돈의 작용은 말초 아편유사제 수용체에 대한 쉐퍼딩 친화성으로부터 이익을 얻고 (이후의 예시 10을 참조), 표적 말초 수용체에 도달할 수 있다 (He 등, 2009). Du 등, 2016에 의해 열거된 모든 조직 및 시스템은 호흡기, 신장, 심장, 췌장, 간, GI 및 면역 세포를 포함하여 아편유사제 수용체를 발현하는 세포로 구성된다.

[0858] G. 아시아계 환자

[0859] 신약 신청 허가를 받기 위해, 일본 제약 및 의료기기청(Japan Pharmaceuticals and Medical Devices Agency)은 FDA(미국) 및 EMA(유럽) 신약 신청이 일반적으로 아시아인/일본인 대상의 제한된 데이터를 사용한 연구를 기반으로 하기 때문에, 추가 약동학(PK) 안전성 및/또는 약력학(PD) 효능 연구를 요구한다. 주로 유전적 변이로 인한 다른 모집단 간의 약물 대사 차이에 의해 결정되는 PK 및 PD의 차이는 일본 피시험자에 대한 보충 임상 연구에 대한 일본 기관 요구 사항의 기반이 된다. 추가 연구가 요구되기 때문에, 일본 인구에 대한 신약 마케팅 신청은 일본에서 개발 프로그램을 위한 약물을 뒷받침하는 새로운 데이터 추가에 의존할 수 있다. 이 신청에 제시되는 새로운 데이터는 특히 아시아계 환자의 효능 가설을 입증하고 요구되는 추가 연구의 유형, 디자인 및 범위를 정의한다.

[0860] 일본인과 백인 피시험자 사이의 알려진 유전적 차이는 (Hiratsuka M1, Takekuma Y, Endo N, Narahara K, Hamdy SI, Kishikawa Y, Matsuura M, Agatsuma Y, Inoue T, Mizugaki M. 일본 인구에서 CYP2B6 및 CYP3A5의 대립형질 및 유전자형 빈도 (Allele and genotype frequencies of CYP2B6 and CYP3A5 in the Japanese population). Eur J Clin Pharmacol. 2002 Sep;58(6):417-21) 다른 집단 사이에서 라세미 메타돈과 덱스트로메타돈에 대한 차등적인 PK 및 PD 반응을 결정할 가능성이 있다.

[0861] 2012년 9월, 미국 및 유럽에서 발견되어 널리 사용된 지 60년이 넘은 후, 라세미 메타돈은 일본에서 통증 치료용으로 승인되었다.

[0862] Takagi 및 Aruga는 (Takagi Y, Aruga E. 일본의 새로운 아편유사제 옵션 - 메타돈, 타펜타돌 및 하이드로모르폰 [New Opioid Options in Japan - Methadone, Tapentadol and Hydromorphone]. Gan To Kagaku Ryoho. 2018 Feb;45(2):205-211) 개인 간의 약동학의 다양성이 어떻게 유해 사례에 대한 면밀한 모니터링을 요구하는지 지적한다. Takagi 등, 2018에 의해 설명된 PK 및 PD 라세미 메타돈 다양성은 잠재적으로 덱스트로메타돈과도 관련이 있다. 라세믹 메타돈은 간의 N-탈메틸화를 거쳐 시토크롬 P450(CYP) 이소형 CYP3A4, CYP2B6, CYP2C19에 의해, 또한 CYP2C9 및 CYP2D6에 의한 더 적은 정도까지, 안정하고 아편유사제-비활성 대사산물인 2-에틸리덴-1,5-디메틸-3,3-디페닐피롤리딘을 생성한다.

[0863] CYP2B6, CYP2C19, 및 CYP3A4에 의한 라세미 메타돈의 입체선택적 대사는 거울상 특이적 메타돈 분석을 사용하여 연구되었고, 여기서 CYP2B6은 우선적으로 대사된 덱스트로메타돈이고, CYP2C19는 우선적으로 대사된 레보메타돈이고, 또한 CYP3A4는 우선화를 나타내지 않았다 (Gerber JG, Rhodes RJ, Gal J. 시토크롬 P4502B6 및 2C19에 의한 메타돈 N-탈메틸화의 입체선택적 대사 (Stereoselective metabolism of methadone N-demethylation by cytochrome P4502B6 and 2C19). Chirality. 2004;16: 36-44).

[0864] 가교 연구는 일반적으로 주로 백인 집단에서 실행된 연구의 PK 및 PD 결과를 해석하고 이러한 결과를 아시아계

환자에게 적용하는데 사용되었다.

[0865] 본 발명자는 차등적인 PK 및 PD 반응이 아시아 및/또는 일본 환자의 치료 용도로 덱스트로메타돈의 개발을 방해할 임상적으로 의미있는 부정적인 결과를 초래하지 않을 수 있음을 제안하는 덱스트로메타돈에 대한 새로운 데이터 및 새로운 데이터 분석을 제시한다. 본 발명자는 또한 아시아 환자에서의 효능을 포함하여 잠재적 효능을 시사하는 새로운 데이터 및 새로운 데이터 분석을 제시한다. 본 출원에서 제시된 데이터는, 아시아 및/또는 일본 인구에서 덱스트로메타돈의 추가 개발이 잠재적으로 유익한 치료 용도를 가질 수 있다는 지시 이외에, 아시아 및/또는 일본 환자의 치료 용도를 위한 새로운 화학 물질로서 덱스트로메타돈의 추가 개발 경로에 대해 알려준다.

[0866] 1. 단일 용량 및 다중 용량 상승 연구

[0867] 본 발명자는 Bernstein 등, 2019에 표시된 단일 용량 및 다중 용량 상승 연구의 (SAD 및 MAD 연구) 데이터에 대한 보충 분석을 실행하였고, 인종적으로 다양한 피시험자에서 [SAD (42명의 피시험자): 백인 57.1%, 흑인-아프리카계 미국인 28.6%, 아시아인 11.9%, 혼합 2.4%; MAD (24명의 피시험자): 백인 62.5%, 흑인-아프리카계 미국인 20.8%, 아시아인 12.5%, 혼혈 4.1%], 덱스트로메타돈이 대부분의 단일 용량 및 다중 용량 매개변수에 대해 용량 비례성을 갖는 선형 약동학을 나타냄을 개시한다. 10일 동안 최대 150mg의 단일 용량과 최대 75mg의 일일 용량은 대부분 경증의 치료-응급 이상 반응으로 내약성이 높았고 심하거나 심각한 이상 반응은 없었다. 용량과 관련된 졸음과 메스꺼움이 발생하였고 대부분 더 높은 용량 수준에서 나타났다. 갑작스러운 중단 시 호흡 억제, 해리 및 정신분열 효과, 또는 금단 징후 및 증상의 증거는 없었다. 전체 용량-반응 효과가 관찰되었고, 더 높은 용량으로 인해 기준선에서 더 큰 QTcF (Fridericia 공식을 사용하여 보정된 QT 간격) 변화가 나타났지만, 조사자들은 어떤 변화도 임상적으로 의미있는 것으로 간주하지 않았다. 덱스트로메타돈에서 레보메타돈으로의 검출 가능한 전환은 아시아계 환자를 포함하여 이들 피시험자의 생체내에서 발생하지 않았다. 특히, 본 출원에 대해, 적어도 1회 용량의 덱스트로메타돈을 투여받은 본 연구에 포함된 6명의 아시아계 피시험자 중에서, 10일 동안 최대 150mg의 단일 용량 및 최대 75mg의 일일 용량은 대부분 경증의 치료-응급 이상 반응으로 내약성이 높았고 심하거나 심각한 이상 반응은 없었다.

[0868] 본 발명자는 또한 덱스트로메타돈으로 치료된 피시험자에서 (SAD 및 MAD 연구) 약물유전체학적 분석을 (이후에 자세히 설명되는) 실행하였고, 본 발명자는 높은 PK 변동성에도 불구하고 모든 매개변수 및 용량 수준에 대한 축적 비율이 20% 미만이라는 결론을 내릴 수 있었고, 따라서 개인 간 변동성이 PK 매개변수에 영향을 미치지만 전체 약물 축적에는 영향을 미치지 않음을 입증하였다. 따라서, 이러한 약물유전체학적 분석 결과는 환자의 덱스트로메타돈 PK 및 PD 결과가 아시아계 및/또는 일본 환자에서 재현될 가능성이 있음을 제시한다.

[0869] 2. 약물유전체학적 분석

[0870] 각 피시험자로부터 DNA 추출을 위한 혈액 샘플이 획득되었다. 샘플은 게놈 연구소로 [LabCorp Clinical Trials-Genomics Lab [Seattle, Wash]] 배송될 때까지 -70° C 이하에서 보관되었다. 맹검 분석을 기반으로, 특정 피시험자는 대사 속도가 느리거나 빠른 것으로 확인되었다. 이들 피시험자의 혈액 샘플에서 DNA를 추출하고 특정 대사 효소의 특정 발현을 결정하기 위해 마이크로어레이 분석이 실시되었다 (이후를 참조).

[0871] 약물유전체학 테스트는 DMET 마이크로어레이를 사용하여 수행되었다 (Affymetrix, Santa Clara, CA). 다른 대사자에게 활동 점수를 할당하여 탐색적 분석이 실행되었다: 열악한 대사자 = 0, 중간 대사자 = 1, 광범위한 대사자 (EM) = 2, 또한 중간 대사자 또는 EM = 1.5, EM 또는 초고속 대사자 = 2.5와 같은 불확실성에 대한 중간 점수를 갖는 초고속 대사자 = 3. SAD 및 MAD 연구 모두에 공통된 약동학적 매개변수는 통합되었다. DMET 프로파일링은 다중 대사 관련 유전자에 대한 다형성 및 관련 유전자에 대한 표현형 및 활성에 관한 해석을 포함하였다. 그러나, 유전자 다형성의 존재를 기반으로 한 유전자 활성에 대한 정보가 모든 유전자에서 이용가능한 것은 아니다. 약물유전체학 보고는 문헌에 보고된 바와 같이 덱스트로메타돈 대사와 관련된 대사 효소의 서브세트에, 특히 CYP 효소 CYP1A2, CYP2B6, CYP2C18, CYP2C19, CYP2D6, CYP3A4, CYP3A5 및 CYP3A7에 제한되었다 (Fernandez CA, Smith C, Yang W 등. DMET 플러스 유전자형 결과와 이교 유전자형 방법의 일치 (Concordance of DMET plus genotyping results with those of orthogonal genotyping methods). Clin Pharmacol Ther. 2012;92:360-365).

[0872] SAD 연구의 총 9개 샘플과 MAD 연구의 10개 샘플이 약물유전체학 분석을 위해 선택되었고, 두 연구에 공통된 PK 매개변수는 비교를 위해 통합되었다 (선택된 샘플 중 하나는 아시아 피시험자에서 온 것이다). CYP3A4 표현형은 시험된 모든 피시험자에서 정상적인 대사를 나타내었으므로, 덱스트로메타돈 대사에 영향을 미치지 않았다. 분

석은 제거 반감기와 CYP2B6 대사 활성 및 가능하게 CYP1A2 활성 사이의 잠정적 상관관계를 제시한다. CYP2B6의 광범위 및 초고속 대사제는 (활성 점수 1.5-2.5) 열악 및 중간 대사제에 비해 제거 반감기가 현저히 짧았다. CYP1A2에서도 유사한 경향이 관찰되었다. 제거와의 CYP2C19 관계는 예상과 반대였다: 증가된 활동은 연장된 덱스트로메타돈 제거와 일치하였다. CYP1A2 및 덱스트로메타돈의 첫 번째 투여 후 24시간 동안의 노출에 대해 잠정적인 경향이 관찰되었고, 여기서 활성 증가는 노출 감소와 상관관계가 있었다. 다른 CYP 효소는 노출에 영향을 미치지 않았다.

[0873] 덱스트로메타돈의 용량 비례성은 이전에 문헌에서 잘 특성화되지 않았다. PK 매개변수의 높은 변동성이 통계적 유의성의 결정을 방해했지만, PK의 선형성은 단일 용량 매개변수에 대해 잠정적으로 입증되었고 다중 용량 매개변수에 대해 결정적으로 입증되었다. MAD 연구에 대한 용량 비례성은 1일차에 단일 용량 Cmax 및 AUCtau에 대해, 10일차에 정상 상태 Cmax, AUCtau 및 Css에 대해 입증되었다. MAD 연구에서 확인된 용량 비례성에도 불구하고, 50mg과 75mg 치료 그룹 간의 농도 및 노출 비교는 매우 작은 차이를 보여주었다. 인구학적/약물유전체학적 특성을 기반으로, 50mg 피시험자 내에서의 더 높은 변동성, 또는 투여량 수준을 기반으로 혈류에서 말초 구획으로 약물의 빠른 흡수와 전신 순환으로의 느린 방출이 이러한 관찰을 설명할 수 있다. 말초 구획에서 분리된 제거도 또한 기여했을 수 있다.

[0874] 덱스트로메타돈을 매일 6~7회 투여한 후 정상 상태에 도달하였다. SAD 연구에서, AUC0-inf 대 AUC0-24의 비율은 25%의 변동 계수 퍼센트로 약 2.5배이었다. 이는 선형 PK를 가정할 때 정상 상태 노출에 대한 예상 축적 비율로 간주되었다. Cmax, Cmin 및 AUCtau를 사용하여 계산된 축적 비율은 투여 10일 동안 덱스트로메타돈의 축적을 입증하였다. 축적 비율은 50mg 용량 수준에서 AUCtau에 대해 가장 높았지만 일반적으로 2.3-3.4배의 범위에 있었다. 따라서, 덱스트로메타돈의 관찰된 축적은 50mg 용량 수준에서 예상 축적에 가깝거나 약간 초과하였다. 높은 PK 변동성에도 불구하고, 모든 매개변수 및 용량 수준에 대한 축적 비율은 20% 미만이므로, 개인 간 변동성이 PK 매개변수에 영향을 미치지만 전체 약물 축적에는 영향을 미치지 않음을 입증하였다.

[0875] 시토크롬 P450 효소는 라세미 메타돈의 경우와 같이, 라세미체 입체 이성질체 중 하나에 대한 선호도를 갖는다. CYP2B6은 L-메타돈보다 덱스트로메타돈 대사에 더 큰 역할을 하고, CYP2B6 다형성은 덱스트로메타돈의 노출에 영향을 미치는 것으로 나타났다. MAD 연구에서, CYP2B6의 광범위 및 초고속 대사제는 제거 반감기가 현저하게 더 짧았다. 이전 데이터가 메타돈 유지 환자에서 라세미 메타돈 배치에 대한 CYP1A2의 영향을 나타내지 않았지만, 본 발명자는 더 높은 활성이 건강한 정상 지원자에서 더 짧은 제거 반감기 및 더 적은 노출과 상관관계가 있음을 관찰하였다. 그러나, 본 발명자가 연구에서 흡연자를 배제하고 담배 연기가 CYP1A2의 알려진 유도제이기 때문에, 연구 모집단의 차이가 이러한 결과에 영향을 미쳤을 수 있다.

[0876] 잠재적으로 복잡한 메카니즘은 대사 효소와 ABCB1 유전자에 의해 암호화되는 유출 약물 수송체 P-당단백질과 같은 수송체 사이의 상호작용과 함께, 덱스트로메타돈의 분포 및 제거에 관여된다. 이 유전자의 다형성이 메타돈의 PK에 크게 영향을 미치는 것으로 제시되었다; 그러나, 그 효과는 부분적으로 다양한 집단 빈도를 갖는 코딩 영역에서 단일 뉴클레오티드 다형성의 수가 많기 때문에, 결정적이지 않다. 본 발명자가 관찰한 높은 PK 변동성은 다중 CYP 효소에 의한 덱스트로메타돈의 복잡한 대사 및 CYP2B6 다형성의 다양성과 일치한다.

[0877] 요약하면, 덱스트로메타돈 노출에 영향을 미치는 것으로 알려지고 일본 인구에 특정한 유전적 변이와 함께 (Hiratsuka 등, 2002), 상기에 상세히 설명된 본 발명자의 새로운 데이터 분석은 아시아계 및/또는 일본 인구에서 덱스트로메타돈 치료의 안전성을 나타내고 (상기에 설명된 최대 150mg 용량의 덱스트로메타돈으로 치료받은 6명의 아시아인 환자의 SAD 및 MAD 데이터) 아시아 및/또는 일본 환자 집단에서 덱스트로메타돈의 추가 개발을 장려하고 있다.

[0878] 3. 쥐의 PK 및 안전성 실험 데이터

[0879] 본 발명자는 쥐에서의 새로운 PK 연구 및 쥐에서의 새로운 안전성 연구를 실행하였다. 이러한 연구는 (이후에 간략히 논의되는 연구 A, B, 및 C) 아시아 및/또는 일본의 인간 피시험자를 포함하여 인간 피시험자에 대한 연구의 적절한 설계에 필수적인 새로운 정보를 제공한다.

[0880] 연구 A는 쥐에 대한 경구 및/또는 피하 투여 후 단일 텍스트 기사의 약동학적 연구이었다. 연구 A에서, 총 255개의 연구 샘플이 메타돈에 대해 (덱스트로 및 레보 거울상 이성질체) 분석되었다. 보정 표준 및 품질 관리 샘플의 결과는 보고된 모든 농도에 대해 방법의 허용가능한 성능을 입증하였다.

[0881] 연구 B는 독성 동태 평가를 통해 쥐의 배태자 발달에 대한 d-메타돈의 영향에 대한 연구이었다. GD 6-17로부터 d-메타돈을 경구 투여한 Sprague-Dawley 쥐에 대한 이 배태자 발달 연구에서, 평가된 모든 용량 수준에서 모체

생존, 임상 소견, 난소 및 자궁 매개변수, 또는 모체 거시적 소견에 대해 시험 물품 관련 효과는 관찰되지 않았다. 시험 물품과 관련되었지만 유해하지 않은, 산모 체중 및/또는 체중 변화의 감소가 10, 20 및 40mg/kg/day에서 관찰되었고, 40mg/kg/day에서 산모의 음식 섭취량 감소가 관찰되었다. 평가된 모든 용량 수준에서 태아 생존, 성비, 체중, 외부, 내장 및 골격 검사를 기반으로 한 발달 독성의 증거는 관찰되지 않았다. 이러한 발견을 기반으로, 모체 및 발달 독성 모두에 대한 관찰되지 않은 역효과 수준(no-observed-adverse-effect level, NOAEL)은 40mg/kg/day(GD 17 Cmax = 738ng/mL; GD 17 AUC0-24hr = 9920hr*ng/mL)인 것으로 간주되었고 평가된 최고 용량 수준이었다.

[0882] 연구 C는 쥐에 대한 91일 간의 안전성 연구로, 쥐에서 다른 용량의 덱스트로메타돈에 대한 장기 안전성을 설명하였다. 이 연구는 새로운 장기 안전성 데이터, 특히 라세미 메타돈과 비교하여 CNS 효과 및 호흡 억제 효과의 결여를 제공하였다.

[0883] 특히, 연구 A는 성별에 따른 차이를 포함하여 쥐에서 현저한 PK 차이를 나타내었고, 이는 여성 피시험자를 포함하여 아시아 및/또는 일본 피시험자로부터의 연구 및 데이터를 포함한 인간 데이터 분석을 위해 고려될 것이다. 특히, 연구 B 및 C는 가임기 여성에 대한 연구 및 데이터를 포함하여 아시아 및/또는 일본 피시험자로부터의 연구 및 데이터를 포함한 인간 데이터 분석 및 인간 연구의 설계를 나타내는 새로운 안전성 데이터를 입증하였다.

[0884] 상기에 제시된 인간 PK, PD 및 약물유전체학 데이터와 함께, 쥐에서의 이러한 새로운 PK 및 안전성 실험 데이터는 가임기 여성 피시험자를 포함한 여성 피시험자를 포함하여 아시아 및/또는 일본 인구에서 덱스트로메타돈의 개발에 유용한 새로운 지원 및 새로운 지시를 제공한다. 마지막으로, 연구 A, B 및 C는 아시아 및 특히 일본 환자를 포함하여 잠재적으로 약리학적으로 더 민감한 환자 집단에서 덱스트로메타돈의 개발을 장려하고 지시한다.

[0885] 4. 효능 실험 및 임상 데이터

[0886] 본 출원에서 제시된 (예시 3) 새로운 실험 데이터는 일본을 포함한 아시아 국가에서 덱스트로메타돈의 임상 개발 프로그램을 위한 다음 단계를 추가로 지원하고 지시한다. 예시 1-9는 모두 일본 환자를 포함하여 아시아인의 피시험자에서의 발달을 포함하는 다양한 질병 및 장애에 대한 덱스트로메타돈의 발달을 지원한다.

[0887] 특히, 제시된 데이터는 특정하게, 우울증, 불안, 감정실금, 피로 및 강박 장애; 머리카락뽑기, 피부병, 손톱 물어뜯기 중에서 선택된 자해 행동; 이인화 장애; 처방약, 불법 약물 또는 알코올 중독; 행동 중독; 신경병증성 통증을 포함한 통증; 알코올 금단증상; 및 기침을 포함하는, 신경정신 질환, 장애, 증상 및 상태의 신경생물학 및 신경병리학에 대한 최근의 발견을 고려하여, 덱스트로메타돈이 CNS 가소성 효과 및 잠재적인 임상 관련성의 행동 효과를 생성하는 것으로 나타낸다. 본 출원에 개시된 신경가소성 및 행동 실험 결과는, 위약과 비교하여 시험된 아시아인 피시험자(N=2)의 100%에서 덱스트로메타돈 투여에 의해 결정된 혈장 BDNF의 증가와 함께, 아시아 및/또는 일본 환자를 위한 잠재적인 치료 효과의 지원을 제공한다.

[0888] 요약하면, 상기에 개시된 새로운 데이터와 결과는 덱스트로메타돈의 안전성과 효능을 지원하고, 백인 인구와 비교하여 PK 및 PD 매개변수 및 특성의 차이를 나타내는 아시아 및/또는 일본 인구와 같은 인구를 포함하여, 치료제 및/또는 신경가소성 조절제로서의 덱스트로메타돈의 지속적인 임상 개발을 지시한다.

[0889] **예시 10: 작용 메카니즘; 엔돌핀 시스템 및 NMDAR과의 관계; MOR-NR1 이중 수용체 이종이량체의 선택적 표적화; NMDAR 쉐퍼딩 친화성; 리간드-유도 시그널링**

[0890] 본 예시 10은 기분 조절 뇌 회로의 뉴런 부분에서 NMDAR에 대한 NMDAR 채널 차단제 덱스트로메타돈의 선택성을 설명하는 새로운 작용 메카니즘을 제공하는 쉐퍼딩을 입증한다.

[0891] A. 전제

[0892] 통증/진통의 중심 역할로 잘 알려진 엔돌핀 시스템은 (Pasternak GW, Pan YX. 뮤 아편유사제 및 그 수용체: 개념의 진화 (Mu opioids and their receptors: evolution of a concept). *Pharmacol Rev*. 2013;65(4):1257-1317. Published 2013 Sep 27) 경험의 정서적 구성 요소를 (예를 들면, 쾌락과 고통) 조절한다. 엔돌핀 시스템은 항상성 기분과 웰빙의 주요 생리학적 조절자이고, 선택, 사회적 상호작용 및 인지 능력/관심을 지시한다. 상태 (웰빙, 만족감), 기능 (인지 및 동기 부여 기능, 예를 들면 작업에 집중할 수 있는 능력 및 의지; 학습, 기억 형성), 및 신경정신 장애는 (예를 들면, 기분 변화, 우울 또는 조울증, 불안 상태, 중독 및 강박 행동) 엔돌핀 시스템에 의해 고도로 조절된다. 엔돌핀 시스템 항상성은 MDD, GAD, OCD, 중독 장애 및 관련 장애와 같은 신경정신 장애에서 변경된다 (Lutz PE, Kieffer BL. 아편유사제 수용체: 기분 장애에서의 뚜렷한 역할 (Opioid receptors: distinct roles in mood disorders). *Trends Neurosci*. 2013;36(3):195-206).

[0893] 엔돌핀 시스템에서 수용체-리간드 상호작용의 특성을 규명한 약물인 아편유사제 약물의 만성 사용의 임상 적용은 내성, 신체적 의존성 및 중독에 의해 제한된다. 이러한 단점에도 불구하고, 대안의 부족으로 인해 1950년대까지, 아편유사제는 기분 장애 및 불안을 포함한 신경정신 장애의 치료에 널리 사용되었다.

[0894] 아편유사제 수용체와의 (MOR, DOR, KOR 및 그 외에) 직접적인 약물 (또는 내인성 리간드) 상호작용은 아편유사제 효과에 대한 책임이 있다 (Pasternak 및 Pan., 2013). 엔돌핀 시스템의 모든 작용제가 기분을 좋게 하는 것은 아니다: MOR의 활성화는 보상 반응과 연관되는 반면 (베타-엔돌핀 및 MOR 작용제), 불쾌감과 연관된 KOR의 (다이노르핀 및 KOR 작용제) 활성화는 그 반대이다.

[0895] 경험은 새롭거나 반복될 수 있다. 특히, 새로움은 엔돌핀 방출과 연관된다.

[0896] B. 새로운 경험

[0897] 새로운 경험이 유리한 진화/종 보존 특징을 가질 때 (예를 들면, 성행위, 음식 섭취, 심지어 단순한 신체 운동), 베타-엔돌핀이 방출되고 뮤 아편유사제 수용체(MOR)가 쾌감, 이완, 행복감으로 활성화된다 (MOR 작용제 유사 감각).

[0898] 새로운 경험이 불리한 진화/종 보존 특징을 가질 때 (예를 들면, 고통의 경우와 같이, 그 경험이 종의 보존에 잠재적 또는 실제적 피해를 주는 결과를 가질 때), 다이노르핀이 방출되고 카파 아편유사제 수용체(KOR)가 불쾌감으로 활성화된다 (KOR 작용제 유사 감각).

[0899] 반복 경험 (즉, 새로운 경험이 아닌) 이후에 방출되는 엔돌핀의 수용체 결합 효과는 NMDAR 수용체 활성화에 의해 (내성) 또한 최초의 새로운 경험에 따른 NMDAR 매개 신경 가소성에 의해 하향 조절된다 (반복 자극에 따른 시냅스 프레임워크의 변화 및 Ca^{2+} 유입의 변화). 각 마지막 경험이 이전 경험에 비해 "새로운" 경험이 되기 때문에, 새로운 경험과 비교해 반복 경험의 효과에 대한 이러한 내성은 각 반복 경험에 대해 사실이다. 예를 들어, 오락 목적이나 진통 목적으로 아편유사제 작용제 약물을 반복적으로 섭취하는 경우에도 동일하게 적용된다: 반복 투여의 효과는 이전의 "오락 고정" 또는 "진통 효과"와 비교하여 달라진다 (예를 들면, 점차적으로 강도가 줄어든다). 잘 알려진 이러한 현상인 내성은 이전 경험과 비교하여 NMDAR의 활성화 및 차등적인 Ca^{2+} 유입의 다운스트림 결과로 인해 발생된다.

[0900] 특정 경험에 대한 시냅스 프레임워크 "순결"은 (내성의 반전) 경험 사이에 충분한 시간이 허용되는 경우 적어도 부분적으로 복원될 수 있다 [요구되는 시간은 개인 (기준선 시냅스 프레임워크) 및 경험의 유형과 강도에 따라, 예를 들어, 음식, 성별 또는 오락 "고정제"로서의 아편유사제 또는 "진통제"로서의 아편유사제에 따라 달라진다]. 자극 사이의 시간은 (즉, 선택 회로의 특정 시냅스 틈 부분에서 글루타메이트 방출이 없는 시간, 따라서 추가 NMDAR 활성화가 없는 시간) 경험에 관여하는 특정 세포의 막에서, 즉 엔돌핀 시스템의 선택 뉴런 부분에서 발현되는 특정 시냅스 프레임워크 내에서 기능적 기준선 (NMDAR 채널의 닫힌 상태) 및 새로운 구조적 (LTP+LTD) 기준선으로의 복귀를 허용한다.

[0901] 따라서, 충분한 시간이 경과하면, 새로운 경험과 비교하여 (내성의 반전) 동일하거나 매우 유사한 효과로 (감정적 반응의 강도) 경험이 반복될 수 있다. 예를 들어 음식 및 성경험과 같이, 경험이 강력한 진화적 종 보존 의미를 갖는 경우, NMDAR이 닫힌 상태로 복귀되어 뮤 수용체가 다시 엔돌핀 폭발에 대한 강한 반응을 이끌어내는 데 필요한 경험 사이의 경과 시간은 짧다. 이는 "고정" 사이에 충분한 시간을 허용하는 아편유사제 중독자의 경우, 또는 수술 후 통증에 아편유사제를 사용하는 경우, 충분한 시간이 두 개의 외과 수술을 분리하여 아편유사제로 치료한 두가지 고통스러운 사건을 분리하는 경우에도 사실이다: 두번의 약물 투여 사이에 충분한 시간이 경과하도록 허용될 때, 반복되는 아편유사제의 효과는 아편유사제 수용체와 관련된 NMDAR이 기준선 활성으로 복귀되기 때문에 처음 사용 이후 경험한 효과에 가깝다.

[0902] 스트레스에 노출된 생쥐의 우울증에 대해 확립된 실험 모델은 성에 대한 관심 상실 (FUST(female urine sniffing test), 암컷 소변 스니핑 테스트) 및 신규 식품에 대한 관심 상실을 (NSFT(novelty-suppressed feeding test), 신규 억제 섭식 테스트) 기반으로 한다. 본 발명자에 의해 개시된 데이터에서, 덱스트로메타돈은 이러한 모델에서 항우울제와 같은 효과를 발휘하는 것으로 나타났다. 예시 2를 기반으로 하고 예시 3에 개시된 덱스트로메타돈의 지속적인 치료 효과에 의해 확인된, 이러한 항우울제 유사 효과에 대해 가정된 작용 메카니즘은 잠재적인 신경 가소성 유도 질병-조절 효과를 시사한다.

[0903] 아편유사제 수용체와 NMDAR은 (AMPAR은 제외한) 뇌의 동일한 영역에 공존하고 (Narita 등, 2008), 선택 뉴런의 시냅스 후 영역에서 구조적으로 연관된다 (MOR-NR1은 생체 내 수용체 이종이량체를 형성한다). 참고로, 이러한

채널의 개방은 탈분극과 Mg^{2+} 차단의 방출에 의존하기 때문에 (Mg^{2+} 차단의 존재하에서, 이러한 채널 아형은 완전히 차단된다), AMPAR의 활성화는 GluN2A 및 GluN2B 채널을 통한 전압 의존적 칼슘 유입을 유발하는데 필요하다. 한편, GluN2C 및 GluN2D는 휴지 막 전위에서 약간의 Ca^{2+} 유입을 허용한다 (Kuner 등, 1996; Kotermanski 등, 2009). 따라서, 덱스트로메타돈은 GluN2C NMDAR 아형 및 Glun2D 아형에 우선적으로 작용할 수 있다 (예시 1, 5 및 6).

[0904] NMDAR 활성화는 엔돌핀에 대한 내성을 위한 분자 메카니즘이고 (이는 생리학적, 진화적 종 보존 메카니즘으로 볼 수 있으므로, 개인이 헛된 쾌락주의적 행동에 탐닉하도록 장려되지 않는다), 또한 아편유사제 약물의 특정 효과에 대한 내성 및 중독의 잘 알려진 현상에 대한 분자 메카니즘이다 (Trujillo KA, Akil H. NMDA 수용체 길항제 MK-801에 의한 모르핀 내성 및 의존성 억제 (Inhibition of morphine tolerance and dependence by the NMDA receptor antagonist MK-801). Science. 1991;251(4989):85-87). 흥미롭게, 내성의 수준은 (온셋 및 강도) 다른 효과에 따라 다르다: 호흡 억제와 행복감에 대한 내성은 빠르고 강렬하지만, 진통 효과에 대한 내성은 다소 느리고 덜 강렬하다. 마지막으로, 아편유사제의 변비 효과에 대한 내성은 거의 없거나 전혀 없다. 이 후자의 효과는 주로 아편유사제의 말초 효과이고, 이는 신경 가소성이 행복감과 같은 중추 효과에 대한 내성의 메카니즘이 될 수 있음을 제시한다. 아편유사제의 다른 효과에 대한 이러한 차등 내성은 아편유사제에 의한 선택 MOR-NR1 이종이량체 활성화를 시사한다. 본 발명자의 실험적 발견 (예시 1-11) 및 다른 관찰을 고려하여, 이러한 아편유사제 효과에 대한 내성, 신체적 의존성, 및 아편유사제의 중독 가능성 (또한 신체적 의존이 해소된 후에도 중독자에게 지속되는 불쾌감을 포함한 금단의 불쾌감), 또한 강박 행동은 MOR과 연관된 GluN2C 및/또는 GluN2D NMDAR 아형의 우선적인 병리학적 활성화에 의해 잠재적으로 결정된다. 본 발명자는 동일한 메카니즘인, 선택된 MOR-NR1 이종이량체의 과활성화가 MDD를 기반으로 한다는 것을 개시한다.

[0905] NMDAR 활성화는 반복적인 (새로운 것이 아닌) 자극-유발 경험으로 인한 (또는 아편유사제의 반복 투여에 의해 유발되는) 엔돌핀의 (또는 아편유사제) 효과를 감소(내성)시킴으로서 내인성 아편유사제 시스템의 생리적 기능을 조절한다. 정의에 의해, 새로운 경험에 대한 내성이 있을 수 없고 아편유사제 작용제 약물의 첫번째 용량에 대한 내성이 있을 수 없다. 학습/기억의 한 형태인 내성은 (신경 가소성 결과를 동반한 NMDAR 과활성) 반복 경험과 아편유사제 작용제 약물의 반복 투여로 발전된다. 내성의 분자 메카니즘은 (반복 경험 또는 아편유사제의 반복 투여에 대한) 아편유사제 수용체와 구조적으로 연관된 (물리적으로 결합된) NMDAR의 PAM이다. NMDAR 채널 개방에서의 증가는 (PAM 효과) Ca^{2+} 유입을 향상시킨다 (Narita 등, 2008). 따라서, 시냅스 핫스팟 MOR-NR1 이종이량체에서 발현되는 시냅스 후 뉴런에서의 과도한 Ca^{2+} 유입은 내성의 분자적 기초이다 (진통 또는 오락 목적으로 반복되는 아편유사제 투여 또는 반복 경험의 효과 감소).

[0906] 반복적인 "긍정적" 경험은 구조적으로 MOR과 연관된 (NR1-MOR의 물리적 결합) NMDAR의 활성화를 유발하게 되고, 새로움을 잃은 이러한 "긍정적" 경험을 반복하는 것에 대한 상대적 또는 절대적 관심 상실과 함께 베타-엔돌핀의 급증에 대한 내성을 결정하게 된다. 동시에, 특히 반복 경험 사이에 "적절한" 시간이 경과하도록 허용되는 경우, 반복적인 "긍정적" 경험이 만족 상태를 결정할 수 있다. 이 "적절한 시간"은 개인 (또한 시냅스 프레임워크) 및 경험 유형에 따라 변하게 된다 [일반적으로, 생존에 필요한 음식과 성의 경험은 (종 보존 경험) "적절한 시간"이 더 짧다. 즉, 반복 경험으로 즐거움을 경험하도록 허용하는 경과 시간은 생존에 덜 중요한 다른 자극에 비해 더 짧다].

[0907] 엔돌핀에 의한 이러한 생리학적 NMDAR 활성화 ("긍정적" 경험) 및 그 다운스트림 효과는 (LTP) 반복 경험이 반복되면 시간이 지남에 따라 감소한다. 경험 사이에 시간이 경과하도록 허용되면, 엔돌핀의 PAM 효과가 없는 상태에서 NMDAR의 기준선 활동으로 복귀하게 된다. 이 경과 시간은 (노출 사이의 "조용함") 채널의 폐쇄 및 Ca^{2+} 유입의 감소를 허용하고, 생리학적 다운스트림 결과, 예를 들어 LTP 및 새로운 메모리 흔을 제공하게 된다. 일정 시간 이후에 경험이 반복되면, 연관된 MOR은 다시 베타-엔돌핀에 생리학적으로 반응할 수 있게 되고 경험의 반복에 따른 보상이 반환되므로 경험에 대한 관심이 복귀된다.

[0908] 본 발명자에 의해 개시된 실험 모델에서 볼 수 있는 바와 같이, MOR-NR1 복합체의 NMDAR 채널 부분이 병리학적으로 활성인 경우 (예를 들어, 만성 스트레스로 인해), 세포 기능장애 및 LTP 기계 정지와 함께 과도한 Ca^{2+} 진입이 있고, 우울증의 고립된 증상에 대한 실험 모델의 경우에서와 같이, 음식과 성에 대한 (또한 다른 활동: 무쾌감증) 관심 상실이 시간이 지남에 따라 지속된다. 환자의 MDD는 저친화성 NMDAR 채널 차단제 덱스트로메타돈에 의해 지속적인 방식에서 성공적으로 역전되었다 (예시 3).

[0909] 병에 걸리기 쉬운 개인에서 ["병에 걸리기 쉬운" 시냅스 프레임워크, 특히 "병에 걸리기 쉬운" NMDAR 프레임워크를 가진 개인, 예를 들어 자극 이후에도 과활성화된 상태를 (병리학적으로 과활성 상태) 유지하는 경향이 있는 NMDAR], 몇번의 반복적인 "긍정적" 경험 또는 새로운 경험을 보상하는 단일 "긍정적" 경험은 지속적인 NR1-MOR 이종이량체 과활성화을 기반으로, 신경정신 장애를 유발, 악화 또는 유지할 수 있다 (예를 들어 중독, 특히 아편유사제 중독, 및/또는 행동 중독 뿐만 아니라, OCD 및 광적인 상태, 또는 예를 들어, 아편유사제 "고정제"로 취득된 것과 같이, 평생에 한 번 "행복한 상태"에 도달할 수 없기 때문에 발생한 우울증). 또한, 변동하는 NMDAR 조절장애는 양극성 장애의 임상적 징후에 대한 분자적 기초가 될 수 있다.

[0910] 동일한 메카니즘으로 (NR1-MOR의 과활성화), 뮤 작용제 아편유사제의 반복 투여는 내성 및 의존성을 유발하고, 약물의 갑작스런 중단 또는 길항제 투여 시 신체적 (MOR과 결합된 말초 NMDAR의 과활성화) 및 정신과적 증상과 (MOR와 결합된 말초 NMDAR의 과활성화) 함께 금단증상을 유발하게 된다 (Trujillo 및 Akil, 1991). 동일한 메카니즘은 (NMDAR의 지속적이고 낮은 수준의 과활성화) 신체적 금단 증상이 해결된 후 MDD를 유발할 수 있다. 강력한 뮤 작용제 아편유사제가 통증이나 오락 목적으로 사용되는 경우, 일반적인 규칙으로, 통증에 대한 진통 효과 또는 도취적인 "고정", 또는 호흡 억제는 용량을 늘림으로서 거의 항상 얻을 수 있고 (진통 및 도취 효과에 대한 상승 한도가 없이), 이는 NMDAR 과활성화 및 그에 따른 내성이 충분히 높은 용량의 전적 작용제 뮤 아편유사제에 의해 극복될 수 있음을 의미한다. 이 일반적인 규칙은 극단적인 예외를 갖고, 예를 들어, 매우 높은 용량의 뮤 아편유사제 작용제로 치료받은 만성 통증 환자에서 통각과민이 나타나고, 여기서 NMDAR 과활성은 뮤 작용제의 (또는 그 대사산물) 만성 용량을 증가시켜 너무 강조되어 더 이상 더 높은 아편유사제 용량으로 극복할 수 없고, 실제로 통각과민이 용량을 증량하여 악화된다. 이러한 상황에서, 통각과민은 일반적으로 더 낮은 동일진통 용량으로 다른 뮤 작용제로 교체함으로서 해결되거나 개선될 수 있다 (Pasternak 및 Pan, 2013). 매우 높은 용량의 만성 아편유사제에 의해 유도된 NMDAR의 강렬한 과활성화 모델에 대한 유추는 예를 들어, 참전용사의 PTSD와 같이 매우 강렬하게 반복되는 외상 경험으로 그려질 수 있다.

[0911] 반복적인 "부정적" 경험은 (또는 부정적인 경험에 대한 집착) 다이노르핀의 새로운 급증에 대한 내성 및 유사하게 부정적인 경험과 관련된 불쾌감의 높이 감소와 함께 (부정적인 경험의 영향에 대한 습관화, 곤경에 대한 더 높은 내성), 구조적으로 KOR과 연관된 NMDAR의 과활성화를 유발하게 되지만, 지속적인 저수준 불쾌감 (MDD, PTSD) 또는 경미한 사건에 대한 과민성을 결정할 수도 있다. 점화와 민감화는 모두 NMDAR 매개 현상으로 알려져 있다 (Trujillo 및 Akil, 1991; Trujillo KA. NMDA 수용체가 아편제 유발 신경 및 행동 가소성에 관여하는가? 임상전 연구 검토 (Are NMDA receptors involved in opiate-induced neural and behavioral plasticity? A review of preclinical studies). *Psychopharmacology (Berl)*. 2000;151(2-3):121-141). 심한 우울증 환자는 일반적으로 긍정적인 경험에 덜 반응할 뿐만 아니라 (우울증의 알려진 특징인 무쾌감증), 부정적인 경험에도 덜 반응한다 (상실에 대한 무관심, 예를 들어 사별이나 실직에 대한 무관심; 우울증의 덜 강조된 표현인 이러한 무관심은 SDQ 척도의 질문 6에 의해 포착된다). 따라서, 일부 노련한 군인에게서 볼 수 있는 전쟁 사건에 대한 상대적인 "무관심"은 효율적인 (공황이 아닌) 전쟁 반응에 필요하지만, NMDAR 과활성화의 (NR1-KOR) 징후일 수 있고 다이노르핀 자극에 대한 KOR 수용체의 반응 감소일 수 있다.

[0912] 병에 걸리기 쉬운 개인에서, 반복적인 "부정적" 경험 또는 단일 "부정적인" 새로운 경험은 (특히 "강한" 경우) 신경정신 장애를 유발, 악화 또는 유지할 수 있다 (예를 들면, PTSD 및 사별 장애를 포함한 MDD 관련 장애). 외상 경험 후의 이러한 지속적인 신경심리학적 증상은 NR1-KOR 과활성화에 의해 분자 수준에서 설명될 수 있고, 과도한 Ca^{2+} 유입은 LTP 기계의 손상을 유발한다.

[0913] 따라서, MDD는 MOR 및/또는 KOR과 연관된 과민성 NMDAR에 의해 유발될 수 있다.

[0914] 본 출원에 개시된 바와 같이, NMDAR 활성화가 과도할 때, 예를 들어 병리학적 또한 강장적 활성화 GluN1-GluN2C 및 2D 아형일 때, 신경정신 장애는 과도한 Ca^{2+} 유입 및 결과적으로 신경 가소성 기계의 조절장애로 인해, 즉 BDNF (예시 2를 참조) 및 LTP/LTD의 결과적 변경을 포함하여 시냅스 단백질의 전사, 합성, 조립 및 발현 또한 신경영양 인자의 전사, 합성 및 방출을 위한 다운스트림 시그널링의 조절장애로 인해, 유발, 유지 또는 악화될 수 있다. NMDAR의 강장제 과활성화의 임상적 징후는 영향을 받는 뇌 영역 또는 보다 정확하게, 신경 세포 집단 및 관련 수용체 및 영향을 받는 기능 회로에 의존한다. MDD 및 관련 장애의 경우, 아편유사제 수용체와 물리적으로 결합된 (구조적으로 연관된) NMDAR의 (예를 들면, NR1-MOR 및/또는 NR1-KOR, 특히 GluN2C 아형) 강장성 과활성화는 엔돌핀 시스템의 생리학적 조절 기능을 방해하여 MDD 및 관련 장애를 일으킨다.

[0915] 안전하고 내약성이 좋은 NMDAR 채널 차단제의 (덱스트로메타돈과 같은) 사용으로 지시된 지식이 진보함에 따라,

신경정신과 의사는 NMDAR 과활성화 (NMDAR 채널 차단제에 대한 응답) 또는 NMDAR 저활동성과 (NMDAR 채널 차단제 투여 후의 악화) 관련된 장애를 이해할 수 있게 된다. NMDAR 과활성에 이차적이지 않은 장애는 덱스트로메타돈 투여 후 개선되지 않거나 악화된다.

[0916] 따라서, 수용체와 (아편유사제 수용체를 포함하는) 연관된 NMDAR의 과활성화의 임상적 징후는 영향을 받는 뉴런 및 뉴런 집단과 상기 NMDAR과 물리적으로 결합된 선택 수용체를 발현하는 회로와 관련된다. NMDAR 과활성화의 이러한 임상 징후는 개인의 고유한 NMDAR 프레임워크에 의존하고, 이는 유전적으로 결정되고 환경적 자극에 의해 후생적으로 형성되며 발달 단계 (예를 들면, 연령), 사회문화적 변수, 또한 성별 차이에 따라 변한다.

[0917] NMDAR은 기억 형성에 (학습, LTP/LTD) 중심적이고 CNS에서 어디에나 편재되어 있다 (또한 랑게르한스 췌장 세포의 인슐린 생산 또는 림프구의 면역 기억 생산과 같이, 이러한 세포의 주요 기능과 관련된 정확한 지시를 시그널링하는데 필요한 추가 CNS에서). NMDAR은 특정한 신경 세포 집단 및 회로의 기능에 따라 다른 선택 수용체와 [예를 들면, 엔돌핀 시스템의 아편유사제 수용체 및 다른 CNS 시스템과 회로에 대한 다른 수용체 (또는 다른 조직의 추가 CNS 수용체)] 구조적으로 연관되어 있다. 과활성 NMDAR이 엔돌핀 시스템에서와 같이 아편유사제 수용체와 구조적으로 연관될 때, MDD 및 관련 장애와 같은 신경정신 장애가 발생할 수 있다. 과활성 NMDAR이 니코틴 수용체와 같은 다른 수용체와 구조적으로 연관될 때, 인지 장애와 같은 다른 신경정신 장애가 발생할 수 있다.

[0918] 케타민, 덱스트로메토르판 및 덱스트로메타돈은 아편유사제 수용체에 대한 친화도가 낮습니다 (메만틴과 다르게). 이러한 NMDAR 채널 비경쟁 차단제는 (예를 들면, 케타민, 덱스트로메토르판 및 덱스트로메타돈, 그러나 메만틴은 제외), 아편유사제 수용체와 구조적으로 연관된 (물리적으로 결합된) 과활성 NMDAR이 있는 뉴런에서 과도한 Ca^{2+} 유입을 하향 조절함으로서, 잠재적으로 엔돌핀 시스템의 조절 장애로 인한 신경정신 장애의 관해와 함께 이러한 아편유사제 수용체의 생리학적 반응을 엔돌핀으로 회복시킨다.

[0919] 아편유사제 수용체에 결합하는 생리학적 신경 펩티드인 엔돌핀은 웰빙, 보상 메카니즘, 스트레스 감소 및 새로운 자극에 대한 반응에 관여한다. 엔돌핀 경로의 방해는 우울증의 고립된 증상과 연관되고 (Lutz 등, 2015), 엔돌핀 수치는 항우울제에 대한 반응과 연관되어 있다 (Kubryak OV, Umriukhin AE, Emeljanova IN 등. 우울증 치료에 대한 긍정적인 반응의 지표로서 혈장 내 β-엔돌핀 수치 증가 (Increased β-endorphin level in blood plasma as an indicator of positive response to depression treatment). *Bull Exp Biol Med.* 2012;153(5):758-760).

[0920] 본 발명자는 병리학적 및 강장적 과활성 NMDAR, 예를 들어 GluN1-GluN2C 아형에 대한 우선적인 작용을 포함하여 (예시 1, 5, 6), 덱스트로메타돈의 NMDAR 채널 비경쟁적 차단 작용에 대한 증거를 제시하였고 (예시 1), 본 발명자는 덱스트로메타돈에 의한 Ca^{2+} 전류의 이러한 하향 조절이 신경 가소성 메카니즘을 통해 동물 모델 및 인간에서 (예시 3) 치료적일 수 있다는 증거를 제시하였다.

[0921] 또한, 본 발명자는 MDD 및 관련 장애가 아편유사제 수용체와 구조적으로 연관된 병리학적 및 강장적 활성화 NMDAR의 선택적 과활성화에 의해 유발될 수 있음을 개시하고 있다. NR1-MOR 또는 KOR 상호작용은 엔돌핀의 생리학적 효과를 조절한다 (MOR 및 KOR에 대한 엔돌핀 또는 아편유사제의 효과는 구조적으로 연관된 NMDAR의 상태에 의해 조절된다). NMDAR 과활성화는 생리학적 엔돌핀 상호작용을 방해하고, 궁극적으로 개인의 일생 동안 주어진 시간에 실시간 기분 상태, 인지 기능 및 사회적 상호작용에 의해 나타내지는 NMDAR 조절 신경 가소성을 (시냅스 구조 및 그에 따른 시냅스 기능) 방해한다.

[0922] 상기에 개시된 바와 같이, 선택된 NMDAR 집단을 우선적으로 표적화하는 잠재적인 치료 약물의 능력, 예를 들어, NMDAR의 생리학적 및 단계적 개방/폐쇄를 절약하면서 (예를 들면, GluN1-GluN2A 및 GluN1-GluN2B 아형, Mg^{2+} 블록에 의해 강력하게 게이트처리되는) 병리학적 및 강장적 과활성 GluN1-GluN2C 및/또는 GluN1-GluN2D 아형에 대한 치료 약물의 능력은 MK-801에서 볼 수 있는 바와 같이 (Trujillo, 2000), 경증으로부터 중등도의 해리 증상에서 혼수 상태에 이르는 인지 부작용을 방지하는데 (덱스트로메토르판 및 케타민) 중요하다. 이러한 부작용은 전압 게이트 수용체의 기능이 차단될 때 나타나거나, NMDAR 아형의 차단이 과도하여 상대적으로 전압 독립적인 NMDAR 아형의 과도한 차단을 포함하여 (병리학적 및 강장적 활성화와 대조적으로, 생리학적 및 강장적으로 개방된 NR1-NR2C) 생리 기능을 방해할 때 볼 수 있다. 시험된 모든 임상적으로 허용되는 NMDAR 채널 차단제에 대해 표시된 (예시 1) GluN1-GluN2C 및/또는 GluN1-GluN2D 아형에 대한 우선적 차단은 세포외 Mg^{2+}의 생리학적 농도 (1mM)의 존재에 의해 몇 배로 강조된다 (Kuner 및 Schoepfer, 1996; Kotermanski 및 Johnson, 2009).

[0923] NMDAR은 CNS에서 (또한 추가 CNS) 어디에나 편재되어 있고, 조절장애 엔돌핀 시스템에 의해 잠재적으로 유발되

는 MDD 및 관련 신경정신 장애와 같은 특정 장애를 표적화할 때, 약물이 아편유사제 수용체와 (예를 들면, NR1-MOR) 기능적 및 구조적으로 연관된 (물리적으로 결합된) 병리학적 및 강장적 과활성 NMDAR을 우선적으로 표적화하는 것이 바람직하다. 이러한 추가 약물 선택성은 [병리학적 및 강장적 활성 GluN1-GluN2C 및 2D 아형에 대한 이전에 설명된 선택성에 (선호도, 예시 1) 더하여, 아편유사제 수용체와 구조적으로 연관된 NMDAR에 대한 선택성], 본 출원 및 아래에 요약된 본 발명가의 새로운 관찰을 고려하여, MDD 및 관련 장애의 치료를 위한 NMDAR 비경쟁 차단제의 효과에 필수적인 특징인 것으로 나타난다. MDD의 경우, Rodriguez-Munoz 등, 2012에 의해 설명되고 Narita 등, 2008에 의해 예상된 MOR-NR1 이종이량체의 표적화는 MDD 및 관련 장애 아편유사제 수용체에서 변경되는, "웰빙"의 생리적 상태를 유지할 때 엔돌핀 시스템의 생리학적 역할 때문에 유용하고, NMDAR은 선택된 뇌 영역에서 (엔돌핀 경로) 구조적으로 연관되어 뉴런의 시냅스 후 영역에서 이종이량체(MOR-NR1)를 형성하게 된다 (Narita 등, 2008; Rodriguez-Munoz 등, 2012).

[0924] 따라서, 엔돌핀 경로의 뉴런 부분에서 NMDAR의 방해에 의해 유발, 유지 또는 악화되는 질병의 경우, 아편유사제 수용체와 (엔돌핀에 대한 수용체) 구조적으로 연관된 (물리적으로 결합된) NMDAR을 선택적으로 표적화하는 것이 바람직하다.

[0925] 쉐퍼딩 친화 가설; 리간드 지향 시그널링; 이중 수용체; 바이어스 시그널링:

[0926] MDD 및 관련 장애의 효과적인 치료를 위해, 아편유사제 수용체와 NMDAR 모두에 친화성을 갖는 약물이 엔돌핀 시스템의 뉴런 막에서 발현되는 아편유사제 수용체와 구조적으로 연관된 (물리적으로 결합된) NMDAR을 선택적으로 표적화하는 목적에 유리할 수 있다. 아편유사제 수용체에 (예를 들면, 메만틴) 대한 친화도가 없는 NMDAR 채널 차단제는 엔돌핀 시스템을 선택적으로 표적화하거나 도달하지 못할 수 있으므로 (그러나, 선택적으로 또 다른 시스템에 도달할 수 있고 다른 수용체, 예를 들어 니코틴 수용체와 연관된 NMDAR을 선택적으로 표적화함으로서 알츠하이머병과 같은 시스템의 기능장애에 의해 유발되는 질병에 잠재적으로 효과적일 수 있다), MDD 및 관련 장애에 효과가 없다 (Zarate 등, 2006; Kishi T, Matsunaga S, Iwata N. 우울증에 대한 메만틴의 메타 분석 (A Meta-Analysis of Memantine for Depression). *J Alzheimers Dis*. 2017;57(1):113-121). 아편유사제 수용체에만 작용하는 약물, 예를 들어 뮤 전적 작용제 모르핀은 [NMDAR 채널 차단제 활성이 없는 레보모르핀 (Gorman 등, 1997)] 실제로 MDD에 반대 효과를 갖게 된다: "행복한" MOR을 표적화함으로서, 레보모르핀은 NMDAR에서 PAM으로 작용하여 MOR-NR1 이종이량체를 선택적으로 표적화한다. "불쾌감" KOR을 (예를 들면, 부프레노르핀 사미도르판 조합) 선택적으로 표적화하는 (길항제 작용) 디자이너 아편유사제 조합도 엔돌핀 시스템을 선택적으로 표적화할 수 있지만, 또한 물리적으로 결합된 수용체에서 NMDAR 활성화를 유발하여, KOR 길항 효과에 대한 내성을 제공하고 부프레노르핀/사미도르판 조합에 의한 KOR 길항작용을 통해 생성된 MDD에 대한 치료 효과의 역전을 초래한다. 실제로, KOR 길항제를 통한 불쾌감 역전을 위한 디자이너 복합제는 우울증의 고립된 증상 치료에 대해 초기 효과를 보인 후 효과를 상실하였다 (Ragguett RM, Rong C, Rosenblat JD, Ho RC, McIntyre RS. 주요우울장애 치료를 위한 부프레노르핀 + 사미도르판의 약력학적 및 약동학적 평가 (Pharmacodynamic and pharmacokinetic evaluation of buprenorphine + samidorphan for the treatment of major depressive disorder). *Expert Opin Drug Metab Toxicol*. 2018;14(4):475-482; Zajecka JM, Stanford AD, Memisoglu A, Martin WF, Pathak S. 주요우울장애의 보조치료를 위한 부프레노르핀/사미도르판 복합제: 임상 3상 결과 (Buprenorphine/samidorphan combination for the adjunctive treatment of major depressive disorder: results of a phase III clinical trial) (FORWARD-3). Neuropsychiatr Dis Treat. 2019;15:795-808. Published 2019 Apr 4). 부프레노르핀 사미도르판 조합의 효능 상실은 구조적으로 연관된 NMDAR의 (KOR-NR1 이종이량체) 활성화를 통한 (PAM 효과) KOR 길항 효과에 대한 내성 메카니즘과 일치한다.

[0927] MDD 및 관련 장애에 효과적이기 위해, 강력한 (고친화성) 아편유사제의 아편유사제 작용제 효과가 NMDAR 차단에 우세하기 때문에, 예를 들어 라세미 메타돈 및 레보메타돈 또는 라세메토르판 및 레보메토르판의 경우 아편유사제 효과가 NMDAR 채널 차단 효과에 우세하기 때문에, 아편유사제 및 NMDAR 작용을 모두 갖는 약물은 고친화성 아편유사제 약물이 (강한 아편유사제) 아니어야 한다. 그러나, NMDAR 차단 활성은 내성을 방지할 수 있고 (MOR 활성화의 PAM 효과를 방지하고), 레보모르핀과 비교해 (NMDAR 채널 차단 활성이 없는 MOR 작용제), 용량 증량에 대한 필요성이 적고 메타돈으로 (MOR 작용제 + NMDAR 채널 차단제) 안정적인 용량을 유지하려는 경향이 있다.

[0928] 따라서, 강력한 아편유사제는 [예를 들면, NMDAR 차단 활성이 없는 전적 아편유사제 작용제 l-모르핀 (Gorman 등, 1997)] 아편유사제 효과를 발휘하고 내성을 유도한다 (즉, NMDAR에서 PAM으로 작용하여 과활성화 및 과도한 Ca^{2+} 유입을 유발한다). 내성은 일반적으로 용량을 증가시켜 극복할 수 있다: 이는 암 통증 치료 분야에서 잘 알려져 있고 (Pasternak 및 Pan, 2013), 여기서 통증 조절에 대한 의학적 필요성은 일부 마약성 부작용의 단점을

극복하고 통증 조절을 위해 고용량의 아편유사제를 일상적으로 사용한다. 강력한 뮤작용제로서의 활성과 NMDAR 차단 작용을 모두 가지는 약물은 (예를 들어, 라세미 메타돈 및 레보메타돈 또는 라세메토르판 또는 레보메토르판) 진통 효과에 대한 내성이 적다 (모르핀에 비해 용량 증량량이 적다).

[0929] 한편, 일부 고친화성이 강한 아편유사제 약물의 특정한 덱스트로-이소형은 라세미 혼합물과 비교하여 유사한 NMDAR 차단 작용을 유지하면서, 아편유사제 수용체에 대한, 즉 덱스트로메토르판 및 덱스트로메타돈에 대한 친화도가 낮은 약물이다 (Codd 등, 1995). 덱스트로메타돈은 예를 들어, (예시 3)의 경우와 같이 NMDAR 과활성화에 의해 유발되거나 유지되는 장애를 치료할 수 있는 용량에서 임상적으로 의미있는 아편유사제 효과가 없다. 이러한 약물의 낮은 아편유사제 수용체 친화도는 임상적으로 명백한 아편유사제 효과를 초래하지 않는다: 용량을 증가시킴으로서, 덱스트로메타돈 및 덱스트로메토르판의 용량 제한 부작용은 아편유사제의 전형적인 부작용이 아니고 (마취, 호흡 억제), 여기서는 매우 높은 용량의 덱스트로메타돈도 투여된다. 고용량에서 아편유사제 효과가 없다는 것은 설치류 연구에서도 나타난다: 라세미 메타돈 및 l-메타돈 시험 동물에서만 마취 및 호흡 억제가 사망에 앞서 일어났고 덱스트로메타돈 치료 동물에서는 그렇지 않았다 (이 동물들에서 죽음은 경련이 선행된 "전부 아니면 전무"의 갑작스러운 현상이었다 (Scott CC, Robbins EB, Chen KK: 메타돈의 광학 이소형의 약리학적 비교 (Pharmacologic comparison of the optical isomers of methadone). J Pharm Exp Ther. 1948; 93: 282-286).

[0930] 또한, NMDAR 채널 차단 작용이 없는 아편유사제, 예를 들어 모르핀(l-모르핀)은 NMDAR 채널 차단 활성 없이 NMDAR에서 PAM으로 작용함으로서, 우울증, 특히 중독 장애의 영역에서 우울증을 포함한 신경정신 증상과 장애를 실제로 유발, 악화, 또는 유지할 수 있다.

[0931] D. NMDAR을 신경정신 장애에 대한 치료 및 진단 대상으로 재고: 엔돌핀 시스템의 선택된 신경 세포 집단에 의해 발현되는 NMDAR을 표적으로 하는 전략으로서의 쉐퍼딩 친화도.

[0932] 실험 데이터로부터 (예시 1-11), 본 발명자는 MDD에 대한 유용한 NMDAR 채널 차단제의 특성을 개시할 수 있다. 이러한 특성은 다음을 포함한다: (1) 비경쟁적 채널 차단을 갖는 NMDAR에 대한 낮은 마이크로몰 친화도 (예시 1); (2) 주요 수용체 아형(2A-D)에 걸친 유사한 친화도 (예시 1); (3) GluN1-GluN2C 및 GluN1-GluN2D와 같이, Mg^{2+} 차단이 덜 적용되는 (전압 게이트 위상 활성화가 덜 적용되는) 수용체 아형에 대한 우선적 친화도 (예시 1) [이 우선적 친화도는 생리학적 농도의 Mg^{2+}가 존재할 때 몇 배로 확대된다 (Kuner 및 Schoepfer, 1996; Kotermanski 및 Johnson, 2009; Patch Clamp study, 예시 6).]; (4) 상대적으로 높은 "트래핑" 및 실질적으로 유용한 동역학: NMDAR에서 "on" 및 "off" 동역학 (예시 6); (5) PAM 및/또는 작용제의 유무에 관계없이, 낮은 글루타메이트 농도의 효과를 길항하는 능력 (예시 5); (6) MDD 유효 용량에서 환자에게 인지 부작용이 없고 (예시 3), 인식에 필요한 지속적인 실시간 "인지" 기능과 관련된 NMDAR의 절약 시그널링; (7) 아편유사제 수용체에 대한 낮은 친화도: 아편유사제 수용체와 구조적으로 연관된 (물리적으로 결합된) NMDAR에 대한 쉐퍼딩 친화도* 및 그에 따른 엔돌핀 시스템에 대한 굴성; (8) NMDAR 채널 차단제의 (덱스트로메타돈) 뇌 농도는 생리학적으로 강장 및 위상 모두의 작동 채널을 절약하면서 병리학적 및 강장적 과활성 NMDAR 채널에 대한 작용을 발휘하기에 충분해야 한다. 덱스트로메타돈은 혈장 농도에 비해 뇌에서 3-4배 더 높은 농도에 도달한다. 독특한 화학 구조, 낮은 분자량(345,91) 및 분배 계수(logP= 3.30)가 바람직한 CNS 침투를 허용한다; 또한 (9) 탈분극 상태를 제외하고, 이미 Mg^{2+}에 의해 차단된 물리적 및 생리학적 작동 채널은 느린 온셋으로 인해 덱스트로메타돈의 영향을 받지 않을 가능성이 있다. (10) 양전하를 띤 분자: 양전하는 Mg^{2+}에 의해 수행되는 차단과 유사하게, 휴지 막 전위 동안 (최대 음의 전압에서) 덱스트로메타돈이 차단을 수행하도록 허용한다: 외부 자극 및 시냅스 전 글루타메이트 방출의 맥락에서 탈분극이 발생할 때, Mg^{2+} 및 덱스트로메타돈이 모두 채널에서 배출되어 MDD 치료 용량에서 덱스트로메타돈에 의한 인지 효과의 부재에 의해 확인된 바와 같이 자극에 대한 생리학적 반응을 허용한다 (예시 3).

[0933] NMDAR 쉐퍼딩 친화도(MDD)는 다음과 같이 정의된다: 무시해도 될 정도의 아편유사제 임상 효과를 초래하는 (예를 들어, 매우 약한 부분 아편류 작용제) 아편유사제 수용체 친화도로, NMDAR 차단 활성의 치료 효과를 극복할 수 없지만 표적 세포 집단, 예를 들어 엔돌핀 경로의 세포 부분과 같은 시냅스 후 핫스팟에서 NR1-MOR 구조적으로 결합된 이종이량체를 발현하는 세포에 약물을 지시할 수 있다.

[0934] NMDAR 쉐퍼딩 친화도는 다음과 같이 정의된다: 정의: NMDAR 채널 차단제를 표적 세포 집단으로 향하게 하는 선택 수용체에 대한 수용체 친화도 (예를 들면, MDD의 경우 아편유사제 수용체 또는 알츠하이머병의 경우

nAChR/NMDAR 복합체 또는 다른 신경정신 장애의 경우 다른 선택 이종이량체 수용체): NMDAR-수용체 구조적으로 결합된 이종이량체를 발현하는 세포, 예를 들면 nAChR/NMDAR 복합체 (Elnagar MR, Walls AB, Helal GK, Hamada FM, Thomsen MS, Jensen AA. 인간과 쥐의 피질과 해마에서 추정되는 α7 nAChR/NMDAR 복합체 조사: 건강한 뇌 조직과 알츠하이머 뇌 조직에서 다른 정도의 복합체 형성 (Probing the putative α7 nAChR/NMDAR complex in human and murine cortex and hippocampus: Different degrees of complex formation in healthy and Alzheimer brain tissue). PLoS One. 2017;12(12):e0189513. Published 2017 Dec 20) 알츠하이머병의 경우 예를 들면, 약물 메만틴.

[0935] NMDAR 길항제 치료 활성이 있는 약물에 대한 쉐퍼딩 친화도는 임상적으로 허용되거나 무시할 수 있는 쉐퍼딩 효과를 초래해야 하고 (덱스트로메토르판과 덱스트로메타돈의 아편유사제 친화성의 경우와 같이), 이는 병리학적 과활성 채널에 대한 NMDAR 치료 차단 효과를 극복할 수 없다 (예를 들면, PAM 효과를 통해): 용량을 증가시킴으로서, 용량 제한 부작용은, 있는 경우, NMDAR과 관련되고 쉐퍼딩 친화도 수용체 효과와 관련되지 않는다. 또한, 내인성 리간드는 수용체 친화성 및 생리학적 농도로 인해 쉐퍼딩 친화성 약물의 치료 농도를 대체할 수 있어야 한다. 이러한 대체는 생리적 리간드-수용체 메카니즘이 재개되도록 허용하고 (예를 들면, 아편유사제 수용체에서의 엔돌핀), 동시에 구조적으로 연관된 NMDAR로의 대체된 약물 분자의 쉐퍼딩을 지지하여 과도한 Ca^{2+} 유입 및 다운스트림 치료 결과의 하향 조절로 채널 폐쇄를 결정할 수 있다.

[0936] 아편유사제 효과가 NMDAR 임상 효과를 극복하지 못하는 능력은 덱스트로메토르판, 케타민 및 에스케타민을 포함하여 MDD에 영향을 미치는 임상적으로 내약성이 좋고 FDA 승인을 받은 모든 NMDAR 채널 차단제의 공통된 특징이고 덱스트로메타돈에도 해당된다.

[0937] MDD 및 관련 장애의 경우, 쉐퍼딩 친화도는 약물이 아편유사제 수용체와 구조적으로 연관된 과활성 NMDAR로 향하게 하여 엔돌핀 회로에서 NMDAR 조절장애를 선택적으로 교정한다 (예를 들면, NR1-MOR 이종이량체 기능적 관계를 교정한다). 쉐퍼딩 친화도는 (이 경우 아편유사제 수용체에 대한 낮은 친화도) 임상적으로 의미있는 아편유사제 효과 없이 아편유사제 수용체에 결합하는 낮은 친화도의 덱스트로메타돈을 결정한다. 낮은 친화도는 생리학적 아편유사제 수용체-엔돌핀 관계의 복원, 진행중인 신경 가소성의 복원 및 MDD 발현의 해결을 포함하여, Ca^{2+} 전류 차단 및 다운스트림 효과와 함께, 구조적으로 연관된 NMDAR에 결합하는 순환 엔돌핀 및 쉐퍼딩에 의한 덱스트로메타돈의 변위를 허용한다.

[0938] 선택된 세포 집단의 막에 있는 다른 수용체와 복합체를 (구조적 결합) 형성하는 NMDAR을 선택적으로 표적화하는 NMDAR 채널 차단제의 능력은 MDD 및 관련 장애에 대해 상기에 설명된 바와 같이, 아편유사제 수용체와 연관된 기능장애 NMDAR에 의해 유발되는 질병에 (엔돌핀 시스템의 손상으로 인한 질병) 부가하여, 다양한 질병에 대해 선택적으로 치료 (및 진단) 될 수 있다.

[0939] <u>E. NMDAR 채널 차단제가 NMDAR과 구조적으로 연관된 특정 수용체에 대한 쉐퍼딩 친화도를 통해 선택된 신경 집단을 표적화하도록 지시</u>

[0940] 이와 같이, "NMDAR 쉐퍼딩 친화도"는 파킨슨병의 경우 흑색질 세포, 헌팅턴병의 경우 미상핵 뉴런, ALS의 경우 운동 뉴런, 또한 다양한 질병 및 장애에 대한 것과 같이, 선택 세포에 의해 발현되는 NMDAR의 선택적 표적화를 위한 도구가 될 수 있다 (예를 들면, 덱스트로메타돈의 경우와 같이, NR1-NR2C 아형에 대한 선호도를 갖는 낮은 친화도의 NMDAR 채널 차단제). 신경 세포 집단 및/또는 회로에 대한 이러한 선택적 표적화는 "NMDAR 쉐퍼딩 친화도"로 달성된다: NMDAR과 구조적으로 연관되고 (물리적으로 결합되고) 질병에 관여하는 회로의 뉴런 일부에 의해 선택적으로 발현되는 수용체의 낮은 친화성 표적화 (MDD의 경우, 쉐퍼딩 친화도는 기분 조절 엔돌핀 시스템의 일부로, 아편유사제 수용체에 대한 선택적 낮은 친화도로 표현된다).

[0941] 과활성 NMDAR은 다수의 질병 및 장애, 예를 들어, 본 발명자에 의해 개시되고 사실상 모든 척추동물 세포에서 NMDAR 발현의 잘 알려진 편재성을 강조하는 질병 및 장애와 관련된다. 알츠하이머병에 대한 메만틴 사용은 NMDAR 쉐퍼딩 친화도의 또 다른 예가 될 수 있다: 여기서 쉐퍼딩 친화도는 nAChR/NMDAR 복합체 또는 시그마 1 수용체 또는 이미다졸린 I1 수용체에 대한 것일 수 있고, 모든 수용체에 대한 메만틴이 낮은 친화도를 갖는다 (Elnagar 등, 2017). 낮은 친화도의 NMDAR 길항제인 아만타딘은 예를 들어, 시그마 1 수용체에 대한 NMDAR 쉐퍼딩 친화도를 통해 (Peeters M, Romieu P, Maurice T, Su TP, Maloteaux JM, Hermans E. 아만타딘에 의한 도파민성 전달 조절에 있어서 시그마 1 수용체의 관여 (Involvement of the sigma 1 receptor in the modulation of dopaminergic transmission by amantadine). The European Journal of Neuroscience 2004. **19** (8): 2212-20), 또는 이 뉴런 집단에 대해 더 특정한 또 다른 수용체에 대한 쉐퍼딩 친화도를 통해 흑색질의 치밀부

에 있는 뉴런에 대해 일부 수용체 선택성을 가질 수 있다. 또 다른 저친화성 NMDAR 채널 차단제인 릴루졸은 운동 뉴런의 선택 수용체에 대한 쉐퍼딩 친화도에서 이점을 얻을 수 있다. 예를 들어 세로토닌 수용체를 통해 운동 뉴런에 대한 쉐퍼딩 친화도를 갖는 NMDAR 채널 차단제 약물은 (덱스트로메타돈에 대해 Rickli 등, 2018에 의해 나타내진 바와 같이) 특정 병리학적 상태에서 약점을 개선할 수 있다 (Nardelli P, Powers R, Cope TC, Rich MM. 패혈증의 쇠약을 치료하기 위해 운동 신경 흥분성 증가 (Increasing motor neuron excitability to treat weakness in sepsis). Ann Neurol. 2017;82(6):961-971).

[0942] 따라서, 가정된 쉐퍼딩 친화도는 MDD 및 관련 장애의 경우, 아편유사제 수용체를 포함하여 다른 수용체와 NMDAR의 선택적 구조적 연관의 (물리적 결합) 직접적인 기능이다. 내인성 리간드, 예를 들어 MOR 쉐퍼딩 친화도의 경우 베타-엔돌핀, 또는 KOR 쉐퍼딩 친화도의 경우 다이노르핀은 아편유사제 수용체에서 낮은 친화도의 덱스트로메타돈 분자를 대체하고 (생리학적 상호작용 내인성 리간드 - 수용체는 따라서 친화도가 낮은 약물에 의해 방해받지 않는다), 덱스트로메타돈은 구조적으로 연관된 NMDAR의 구조적으로 연관된 과활성 개방 채널에 결합하는데 이용가능하다. 차례로, 과도한 Ca^{2+} 유입의 감소를 통한 NMDAR에서의 차단 효과는 내인성 리간드인 베타-엔돌핀 또는 다이노르핀의 결합을 지지하고, 그에 의해 MDD를 유발하는 엔도르핀 회로의 방해를 기반으로 했을 수 있는 "내성 유사 메카니즘"을 (아편유사제 및 진통제에 대해 Trujillo 및 Akil, 1991에 의해 설명된) 반전시킨다.

[0943] NMDAR 쉐퍼딩 친화도 특성은 (1) 낮은 친화도, 및 (2) 약하거나 거의 없는 작용 효과를 포함한다. 이는 아래에서 논의된다.

[0944] 낮은 친화도: 표적 쉐퍼딩 수용체에 대한 (MDD의 경우 아편유사제 수용체) NMDAR 채널 차단제 약물의 친화도/농도는 동일한 수용체에 대한 천연 리간드의 친화도/농도 보다 낮아야 한다 (예를 들면, 베타-엔돌핀은 덱스트로메타돈과 비교해 뮤 아편유사제 수용체에 대한 친화도가 몇 배 더 높으므로, 엔돌핀은 아편유사제 수용체에 대한 친화도가 낮은 덱스트로메타돈과 같은 약물의 치료 (MDD) 농도를 대체할 수 있다). 천연 리간드에 의한 약물의 대체는 구조적으로 연관되고 물리적으로 결합된 NMDAR에 대한 결합을 잠재적으로 지지한다.

[0945] 약하거나 거의 없는 작용 효과 (또한/또는 유리한 부작용): 특정 표적 수용체에 대한 쉐퍼딩 친화도는 임상적으로 의미있는 부작용을 일으키지 않아야 한다 (그러나, 잠재적으로 임상적으로 의미있는 일부 유리한 추가 효과를 초래할 수 있고, 이는 NMDAR 차단에 의해 결정되는 유리한 임상 효과에 추가될 수 있다). 강력한 작용제는 라세미 또는 레보-메타돈 및 라세미 또는 레보-메토르판에서 발생하는 것과 같이 NMDAR 채널 차단 효과를 능가하는 임상 효과를 유발하므로, NMDAR 효과가 임상적으로 덜 유용하다 [예를 들어, 아편유사제 중독 및 통증 치료의 내성을 줄이는데 (예를 들면, 라세미 메타돈) 부분적으로 유용할 수 있지만, MDD 및 관련 장애에서는 유용성이 제한된다].

[0946] NMDAR 채널 차단제를 기능장애 회로의 선택된 세포 집단의 시냅스 후 영역에서 발현된 NMDAR에 쉐퍼딩하는 능력이 특정한 질병의 (예를 들면, MDD 및 엔돌핀 시스템의 기능장애와 관련된 다른 장애) 선택적 표적화에 중요할 수 있지만, 내약성이 매우 좋은 덱스트로메타돈과 같은 약물은 (예를 들어, GluN1-GluN2C 및/또는 GluN1-GluN2D 아형과 같이 Mg^{2+} 차단에 덜 영향을 받는 병리학적 및 강장적 과활성화 수용체 아형에 대한 우선적 친화도 때문에, 따라서 위상적으로 활성인 GluN1-GluN2A 및 GluN1-GluN2B 또는 강장적 및 생리학적으로 활성인 GluN1-GluN2C 및/또는 GluN1-GluN2D 아형의 차단으로 인한 인지 부작용이 덜 발생되는 내약성이 아주 좋고 잠재적으로 유연한 약물이므로) 다른 (비-아편유사제) 수용체와 구조적으로 연관된 (물리적으로 결합된) 과활성 NMDAR로 인한 질병에 대해 또한 효과적일 수 있다 (예를 들면, MDD에 효과적인 용량보다 더 높은 용량에서).

[0947] 다른 수용체에서의 덱스트로메타돈의 작용은 [니코틴성 (Talka 등, 2015); 시그마-1 (Maneckjee 등, 1997); SET, NET (Codd 등, 1995); 세로토닌 수용체, 및 특히 5-HT2A 및 5-HT2C 수용체를 포함한 그들의 아형 (Rickli 등, 2018); 및 히스타민 수용체 (Codd 등, 1995; Kristensen 등, 1995)] 앞서 가정된 바와 같이, 잠재적으로 직접적인 수용체 매개 작용을 결정할 수 있을 뿐만 아니라 잠재적으로 쉐퍼딩 친화도를 통해 효과를 대신 발휘하거나 또한 발휘할 수 있다. 즉, 덱스트로메타돈에 의해 낮은 친화도로 표적화된 이들 수용체 중 하나 이상을 발현하는 집단을 선택하도록 덱스트로메타돈 분자에 지시하여 선택 회로의 선택 뉴런 부분에서 표적화된 다운스트림 신경 가소성 효과와 함께 이러한 수용체와 연관된 병리학적 및 강장적 과활성 NMDAR을 선택적으로 차단한다.

[0948] 본 발명자는 MDD 및 관련 장애에 대한 특정 저친화도 NMDAR 채널 차단제의 (덱스트로메토르판, 케타민, 덱스트로메타돈) 효능이 아편유사제 수용체에 대한 낮은 친화도에 (NMDAR 쉐퍼딩-친화도) 의존한다고 가정한다: 아편유사제 수용체에 대한 이러한 낮은 친화도는 아편유사제 수용체와 연관된 과활성 NMDAR의 선택적 표적화를 허용

하므로, 기능장애 엔돌핀 경로의 뉴런 부분의 선택적 표적화를 허용한다. 이는 덱스트로메토르판, 케타민 및 덱스트로메타돈과 유사한 (예시 1) 활성을 갖지만 아편유사제 수용체에 대한 친화성이 없고, 따라서 NR1-MOR 이종이량체 복합체를 발현하는 세포에 대한 아편유사제 쉐퍼딩 친화성이 없어 엔돌핀 경로의 뉴런 부분에 의해 발현되는 NMDAR의 선택적 표적화가 가능하지 않은 NMDAR 채널 비경쟁적 차단제인 메만틴이 MDD에 비효과적인 이유를 설명한다 (Zarate 등, 2006; Kishi 등, 2017).

[0949] 또한, 날록손은 케타민의 항우울 효과를 없애준다 (Williams NR, Heifets BD, Blasey C 등. 아편유사제 수용체 길항작용에 의한 케타민의 항우울 효과 감소 (Attenuation of Antidepressant Effects of Ketamine by Opioid Receptor Antagonism). *Am J Psychiatry*. 2018;175(12):1205-1215). 아편유사제 수용체에 결합함으로서, 아편유사제 길항제인 날록손은 케타민에 의한 저친화도 아편유사제 수용체 결합을 방해하고, 따라서 아편유사제 수용체와 구조적으로 연관된 NMDAR을 우선적으로 표적화하기 위해 (이는 본 발명가에 의한 또 다른 새로운 개시이다.) 쉐퍼딩 친화성을 방해한다 [아편유사제 수용체에 대한 날록손 고친화성 (길항제) 결합은 동일한 수용체에 대한 저친화성 쉐퍼딩 친화도를 효과적으로 블라인딩(blinding) 시킨다]. 날록손이 케타민의 약한 아편유사제 효과를 방해하거나 엔돌핀의 효과를 방해할 수 있다고 가정되었지만, 날록손에 의한 MDD에서의 케타민 효과의 반전은 (Willians 등, 2018에서 입증된 바와 같이, 케타민 단독의 효과와 케타민 + 날록손의 효과 결여를 설명하는) 대신에 아편유사제 수용체에 대한 "쉐퍼딩 친화도"의 블라인딩에 의한 (케타민이 아편유사제 수용체와 물리적으로 결합된 NMDAR를 더 이상 표적화할 수 없는) 것일 수 있다.

[0950] 본 발명자는 케타민의 (또한 덱스트로메타돈 및 덱스트로메토르판) 경우 항우울제 작용에 대해 약한 아편유사제 효과의 기여 가능성이 낮다고 간주한다: 이 경우, 이러한 약한 아편유사제 효과는, 임상적으로 의미가 있더라도, 케타민 (또한 덱스트로메타돈 및 덱스트로메토르판) 투여 후 몇 시간 이내에 사라지게 되지만 (혈장 수치가 떨어지면서), 대신에 항우울제 효과는 며칠 또는 몇 주 동안 지속된다. 또한, 이러한 약물 중 어느 것도 용량을 증량할 때 임상적으로 의미있는 아편유사제 효과를 갖지 않는 것으로 나타난다: 용량이 증가함에 따라, NMDAR 채널 차단제의 보다 일반적인 "해리성" 유사 효과가 나타나는 경향이 있고 아편유사제 효과는 아니다. 또한, 아편유사제 수용체에 대한 결합이 MDD 치료 작용에 중요한 경우, 용량을 두 배로 늘리면 효과가 증가하고 이는 MDD를 치료하는 NMDAR 채널 차단제의 경우가 아니다 (예시 3). 참고로, 이러한 NMDAR 관련 인지 부작용에 대한 투여 치료 창은 케타민 및 에스케타민에 대해 좁지만, 덱스트로메토르판 (일반의약품) 및 덱스트로메타돈에 대해서는 넓다 (예시 3). MDD 치료 용량에서 덱스트로메타돈에 대한 임상적으로 의미있는 아편유사제 효과의 결여를 나타내는 것 이외에, 호흡 억제제 효과의 결여 및 남용 책임의 결여를 포함하여 더 높은 투여량에 대해 임상적으로 의미 있는 아편유사제 효과의 결여가 동일하게 나타났고 (Isbell 및 Eisenman, 1948; Fraser 및 Isbell, 1962; Olsen, G.D., Wendel, H.A., Livermore, J.D., Leger, R.M., Lynn, R.K. 및 Gerber, N., 라세미 메타돈 및 그 광학 이소형의 임상 효과 및 약동학 (Clinical effects and pharmacokinetics of racemic methadone and its optical isomers), Clin. Pharmacol. Ther., 21 (1976) 147-157; Scott et al., 1948), 최근 간행물에서 DEA의 인정을 받았다 (Drug Enforcement Administration. Diversion Control Division. Drug & Chemical Evaluation Section. Methadone. July 19, 2019).

[0951] MDD의 경우, NMDAR 차단 작용이 있는 저친화성 아편유사제의 쉐퍼딩-친화도는 임상적으로 의미있는 아편유사제 효과가 없을 때 아편유사제 수용체에 대한 "낮은 친화도"에 크게 의존한다: 아편유사제 수용체에 대한 높은 친화도를 갖는 분자는 동일한 약물의 저친화도 NMDAR 차단 작용을 (아편유사제 효과와 함께) 모호하게 할 뿐만 아니라 대응하는 (연관된 NMDAR에서 강력한 아편유사제의 PAM 작용) 아편유사제 작용제 작용을 결정한다: 예를 들어, 라세미 메타돈과 레보메타돈은 강력한 아편유사제이며 NMDAR 효과는 마약 효과에 의해 모호해진다. Trujillo 및 Akil, 1991년에 의해 설명되고 Narita 등, 2008년에 제시된 모르핀에 의해 발휘되는 NMDAR에서의 PAM은 모르핀 내성과 중독 가능성의 분자적 기초이다. 아편유사제 내성에 대한 NMDAR 메카니즘은 본 발명자 중 한 명인 Charles Inturrisi의 초기 연구에서도 나타나고 (Gorman 등, 1997에서), 다른 본 발명자에 의해 임상적으로 관련이 있는 것으로 알려졌다 (Manfredi 등, 1997).

[0952] 한편, 예를 들어, 아편유사제 길항제를 추가함으로서, 아편유사제 수용체에서 NMDAR 채널 차단제를 분리하면, NMDAR 채널 차단제가 또 다른 세포 집단을 표적화할 수 있다 (약물은 더 이상 아편유사제 수용체가 있는 세포에 대해, 예를 들면 엔돌핀 시스템에 관여하는 세포에 대해 선택적이지 않게 된다). 아편유사제 길항제와의 (예를 들면, 덱스트로메타돈/날록손 또는 산디모르판과 같은 또 다른 아편유사제 길항제) 조합은, 아편유사제 쉐퍼딩 효과를 블라인딩함으로서, MDD에 더 이상 효과적이지 않을 수 있지만 다른 세포 집단에 대해 (예를 들면, 니코틴 수용체가 풍부한 세포 집단) 선택적인 (우선적인) NMDAR 채널 차단을 요구하는 또 다른 질병 또는 장애에는 효과적일 수 있으므로, 치매와 같은 다른 질병에 효과적일 수 있다. 다른 질병 및 장애에 대해 선택적인 다수의

NMDAR 채널 차단제에 대한 충족되지 않은 요구는 본 발명자에 의해 주목되어 왔다. 예를 들면, 케타민, 덱스트로메타돈, 덱스트로메토르판 또는 친화도가 낮은 (아편유사제 수용체에 대한 친화도가 낮은, 예를 들어 레보르파놀) 임의의 다른 NMDAR 채널 차단제에 날록손을 (또는 다른 아편유사제 길항제) 추가하는 것은 아편유사제 효과를 길항시킬 뿐만 아니라 쉐퍼딩 아편유사제 친화도를 블라이딩하게 되므로, 아편유사제 수용체로부터 NMDAR 작용을 분리하고 MDD에 대한 이러한 약물의 효과를 잠재적으로 감소시키게 되지만, NMDAR 쉐퍼딩 친화도가 "넥스트 인 라인(next in line, 순서 중 두번째)" 저친화도 쉐퍼딩 수용체에 의해 취해질 수 있도록 "허용"할 수 있다. 덱스트로메타돈의 경우, "넥스트 인 라인" 저친화도 쉐퍼딩 수용체는 잠재적으로 다음과 같을 수 있다: 니코틴성 (Talka 등, 2015); 시그마-1 (Maneckjee 등, 1997); SET, NET (Codd 등, 1995); 세로토닌 수용체, 및 특히 5-HT2A 및 5-HT2C 수용체를 포함한 그들의 아형 (Rickli 등, 2018); 및 히스타민 수용체 (Codd 등, 1995; Kristensen 등, 1995).

[0953] 본 발명자의 겐타마이신 실험 (예시 5) 및 겐타마이신 독성에 관한 문헌에서 배운 바와 같이, PAM은 선택된 세포 집단을 (예를 들어, PAM 겐타마이신의 경우, 내이 세포 또는 신장 세포) 표적화할 수 있고 선택적 흥분독성을 유발할 수 있다. 또한, 퀴놀린산을 포함한 내인성 분자를 포함하는 특정한 분자는 NMDAR 작용제로 작용할 수 있고 선택된 뉴런 집단은 이 작용제 작용에 의해, 예를 들어 퀴놀린산의 경우 엔돌핀 경로의 뉴런 일부에 의해, 더 영향을 받을 수 있다. 덱스트로메타돈은 PAM 및/또는 작용제의 효과로 인해 병리학적 과활성 NMDAR을 통해 과도한 Ca^{2+}를 감소시키는데 잠재적으로 효과적이다 (예시 5).

[0954] 본 발명자의 실험 결과를 (예시 1-11) 고려하여, MDD는 엔돌핀 경로의 질병으로 볼 수 있고, 여기서 아편유사제 수용체와 구조적으로 연관된 선택 NMDAR이 병리학적으로 과자극된다 : PAM (예를 들면, 모르핀 또는 기타) 유무에 관계없이 또한 독성 작용제 (예를 들면, 퀴놀린산 또는 기타) 유무에 관계없이, 낮은 농도의 글루타메이트, 예를 들어 자극에 (예를 들면, 스트레스) 의해 유도된 낮은 수준의 세포외 시냅스 글루타메이트에 의해, 또는 결함 EAAT나 성상교세포 병리와 같은 결함 제거 메카니즘으로 인한 만성적 낮은 수준의 과도한 글루타메이트에 의해 병리학적 및 강장적으로 과활성된다.

[0955] 연관된 NMDAR이 과활성 상태일 때 엔돌핀은 더 이상 아편유사제 수용체에 효과적으로 결합할 수 없다 (이 동일한 분자 메카니즘은 아편유사제 내성, 물질 사용 장애, 만성 통증 장애, 다른 중독 장애, 충동 장애, OCD, MDD 및 관련 장애를 포함한 다른 병리학적 상태에 의해 공유된다). 아편유사제 수용체와 구조적으로 연관된 NMDAR에 선택적인 (쉐퍼딩 친화된) NMDAR 채널 차단제는 (예를 들어, 케타민, 덱스트로메토르판, 덱스트로메타돈) Narita 등, 2008 및 Rodriguez-Munoz 등, 2012에 의해 설명된 바와 같이, 구조적으로 연관된 (물리적으로 결합된) MOR-NMDAR 복합체를 발현하는 뉴런에서 Ca^{2+} 유입을 선택적으로 차단한다. 아편유사제 수용체와 연관된 병리학적 과활성 NMDAR이 있는 세포로의 과도한 Ca^{2+} 유입을 감소시키는 다운스트림 효과는 엔돌핀의 생리학적 결합을 회복시키게 된다 [엔돌핀은 훨씬 더 높은 친화도 때문에 아편유사제 수용체와 낮은 친화성 아편유사제를 (예를 들면, 덱스트로메타돈) 대체하고 MOR-연관된 NMDAR 채널 결합 부위에 대체된 약물의 결합을 지지하는데 기여한다]. 마지막으로, NMDAR 조절 신경 가소성은 시냅스 단백질의 생산과 "새로운 건강한 감정적 기억"의 형성 및 MDD의 해결과 함께 엔돌핀 경로 내에서 재개된다.

[0956] <u>F. MDD에 대한 MOR-NMDAR 쉐퍼딩 가설의 증거</u>

[0957] 덱스트로메타돈 및 3가지의 FDA 승인받고 시험된 (예시 1) NMDAR 비경쟁 채널 차단제는 GluN1-GluN2C 아형에 대한 선호 공유를 포함하여 NMDAR에서 유사한 낮은 마이크로몰 활성을 갖는다 (예시 1). 이 4가지 약물 중 메만틴은 MDD에 효과를 나타내지 못한 유일한 약물이다. MDD에서 메만틴의 비효과는 아편유사제 수용체 친화도가 엔돌핀 시스템의 뉴런 부분과 같은, 선택 뉴런의 세포막에 의해 발현되는 이종이량체 GluN1-MOR 구조의 선택 NMDAR 부분에 도달하도록 NMDAR 채널 차단제에 대해 요구될 수 있음을 시사한다. 또한, 케타민은 아편유사제 길항제가 추가되면 MDD에 대한 효능이 떨어진다 (Williams 등, 2018). 종합하면, 이러한 발견과 관찰은 낮은 아편유사제 친화도가 MDD-효과적인 NMDAR 비경쟁적 채널 차단제를 가이드 (쉐퍼딩) 할 수 있으므로, 이들이 아편유사제 수용체와 구조적으로 연관된 (예를 들면, MOR-GluN1 복합체) NMDAR을 발현하는 뉴런을 선택적으로 표적화한다는 것을 시사한다. NMDAR 비경쟁 채널 차단제는 아편유사제 수용체에 대한 친화성이 없는 경우 우울증에 효과가 없어지고 (예를 들면, 메만틴, Zarate 등, 2006; Kishi 등, 2017), 또는 아편유사제 수용체에 대한 친화성이 있는 경우 아편유사제 길항제가 추가될 때 MDD에 대해 효과가 없어진다 (예를 들면, 케타민, Williams 등, 2018에 의해 나타내진 바와 같이).

[0958] 반대되는 증거가 증가함에도 불구하고, 오늘날까지도 종래 기술에 숙련된 많은 자가 덱스트로메타돈의 남용 가

능성에 대해 우려하고 있다. 종래 기술에 숙련된 많은 자는 덱스트로메타돈의 기분 전환 효과가 아편유사제 수용체와의 직접적인 상호작용으로부터의 아편유사제 효과 (모르핀 유사 효과) 때문일 수 있다고 가정한다. 케타민에 대해서도 유사한 우려가 여전히 존재한다 (Sanacora 등, 2015): 본 출원에 개시된 "쉐퍼딩 친화도" 메카니즘은 해당 분야의 전문가를 포함하여 종래 기술에 숙련된 자에게 알려져 있지 않다.

[0959] 아편유사제 작용제는 행복감 및 다른 수용체 매개 효과를 갖지만, 이러한 효과는 약물이 수용체에 결합하는 시간으로 제한되고 약물 중단 시 중단 및 반동하는 것으로 알려져 있다. 본 발명자의 2상 결과는 덱스트로메타돈의 효과가 아편유사제 수용체에 대한 직접적인 작용제 작용에 의해 매개되는 증상 효과가 아니지만, 신경 가소성을 포함한 다운스트림 효과와 함께, 아편유사제 수용체와 (엔돌핀 시스템의 일부) 연관된 NMDAR을 선택하도록 덱스트로메타돈에 지시하는 쉐퍼딩 친화도를 통해 선택적으로 표적화된 NMDAR 효과에 의해 잠재적으로 매개되는 질병-조절 효과임을 나타내는 두 가지 강력한 신호를 예기치 않게 감지하였다 (예시 1-11). 첫번째 신호는 덱스트로메타돈 중단 후 최소 7일 동안의 지속적인 치료 효과이고 (예시 3) 아편유사제 수용체 점유를 넘어서는 효과를 시사한다: 수용체 점유 효과는 약물 중단 이후, 라세믹 메타돈이 아편유사제 사용 장애 유지에 사용되는 경우에 볼 수 있듯이 약 24시간 후에, 또는 라세미 메타돈이 통증 치료에 사용되는 경우에 볼 수 있듯이 6-12시간 후에 중단된다. 본 발명자의 경험과 관찰, 그리고 라세미 메타돈 및 그 이소형의 사용에 대한 문헌 검토 및 라세메토르판 및 그 이소형에 대해 이용 가능한 과학적 문헌으로부터, 아편유사제 수용체 점유에 대한 이차적인 효과는 (통증 완화 효과 또는 아편유사제 내성의 증상 및 징후의 완화) 높은 친화성 아편유사제 작용제 작용을 요구하고, 동시에 NMDAR 매개 신경 가소성 효과는, 예를 들어 MDD에 대한 치료 효과는 임상적으로 의미있는 아편유사제 효과 없이 아편유사제 수용체에 대한 낮은 친화도를 (NMDAR 쉐퍼딩 친화도) 요구한다고 추론할 수 있다.

[0960] 쉐퍼딩 친화도에 대한 두번째 신호: MDD의 경우, 덱스트로메타돈 25mg 용량은 50mg 용량과 비교해 효과가 있거나 더 효과적이고 온셋 속도가 더 빨랐다 (예시 3). 아편유사제 수용체의 점유에 의해 매개되는 효과는 상승 한도가 거의 없거나 전혀 없다 (Pasternak 및 Pan, 2013): 복용량을 두 배로 늘리면 효과가 향상된다 (예를 들어, 라세믹 메타돈이 아편유사제 남용 장애 또는 통증에 투여될 때, 모르핀과 같은 다른 고친화성 아편유사제 작용제의 경우와 같이, 용량을 증가시키면 그 효과가 분명히 증가된다). MDD를 완화하는 용량에서 아편유사제 효과가 없다는 것은 MDD 효과에 대한 메카니즘이 아편유사제 수용체 점유와 관련되지 않고 NMDAR 채널 차단 작용과 관련된다는 것을 시사한다. 엔돌핀 시스템의 선택된 수용체 부분에서 NMDAR 작용은 구조적으로 연관된 아편유사제 수용체에 대한 낮은 쉐퍼딩 친화도에 의해 잠재적으로 지시된다.

[0961] 아편유사제 수용체에 대한 친화도가 낮은 NMDAR 비경쟁적 채널 차단제는 (덱스트로메토르판, 케타민, 덱스트로메타돈) 모두 MDD에 효과적이고, 이 약물이 예를 들어, GluN2C 서브유닛-포함 아형과 같이, 아편유사제 수용체와 구조적으로 연관된 (엔돌핀 시스템) NMDAR을 발현하는 일부 뉴런에서 NMDAR 채널 과활성 및 Ca^{2+} 유입을 감소시킴으로서 생리학적 엔돌핀-아편유사 수용체 상호작용을 회복시킬 수 있다는 가정을 지원한다. 이 효과는 아편유사제 수용체를 발현하는 뉴런의 선택적 표적화를 (쉐퍼딩 친화도를 통한) 요구한다.

[0962] 선택된 성상교세포 집단이 (예를 들면, CA1 해마 영역에 있는 집단) MOR을 고도로 발현한다는 점에 주목하는 것이 흥미롭다 (Nam 등, 2018). 이러한 MOR은 기억 형성의 중심 역할을 하는 것으로 생각된다 (Nam 등, 2019; Zhang H, Largent-Milnes TM, Vanderah TW. 아편유사제 보상에서 신경교 신경면역 시그널링 (Glial neuroimmune signaling in opioid reward). Brain Res Bull. 2020;155:102-111). 세포외 글루타메이트 항상성에서 성상교세포의 역할은 잘 인식되어 있고, 성상교세포 유도 글루타메이트는 억제성 시냅스 전달의 NMDAR 매개 강화의 핵심일 뿐만 아니라 (Kang 등, 1998), NMDAR 매개 신경 느린 내부 전류 및 LTD의 핵심이다 (Fellin 등, 2004; Navarrete M, Cuartero MI, Palenzuela R 등. 성상 세포 p38α MAPK는 NMDA 수용체 의존성 장기 우울증을 유발하고 장기 기억을 조절한다 (Astrocytic p38α MAPK drives NMDA receptor-dependent long-term depression and modulates long-term memory). Nat Commun. 2019;10(1):2968).

[0963] 참고로, 항우울제-유사 효과가 있는 마취 이하 용량의 케타민은 쥐 해마에서 글루타메이트 수송체 EAAT2 및 EAAT3의 발현을 상향 조절하고 (Zhu X, Ye G, Wang Z, Luo J, Hao X. 케타민의 마취 이하 용량은 항우울제-유사 효과를 발휘하고 쥐의 해마에서 글루타메이트 수송체의 발현을 상향 조절한다 (Sub-anesthetic doses of ketamine exert antidepressant-like effects and upregulate the expression of glutamate transporters in the hippocampus of rats). Neurosci Lett. 2017;639:132-137), 이는 EAAT2 발현 조절, 따라서 강장제 글루타메이트 수준 조절에서 성상교세포 NMDAR의 가능한 역할을 제시한다. 따라서, 케타민, 덱스트로메토르판, 덱스트로메타돈 및 메만틴과 같은 낮은 친화도의 비경쟁적 NMDAR 채널 차단제는 (예시 1), 성상교세포 NMDAR의 채널

기공을 통한 과도한 Ca^{2+} 전류를 차단함으로서, 또 다른 메카니즘에 의한 흥분독성을 제어할 수 있다: 글루타메이트 수송체의 발현을 상향 조절하고, 차례로 글루타메이트의 강장제 수준을 하향 조절한다. 따라서, 선택된 성상교세포 집단의 막에서 발현되는 구조적으로 연관된, 물리적으로 결합된 NMDAR-MOR의 덱스트로메타돈에 의한 우선적 표적화는 (쉐퍼딩 효과) 세포외 글루타메이트 수준의 균형 잡힌 조절을 매개하는 것을 포함하여, 다른 메카니즘에 의해 덱스트로메타돈의 항우울 메카니즘에 기여할 수 있다.

[0964] 마지막으로, 덱스트로메타돈의 항우울 효과는 또한 선택된 신경교 세포 집단의 막에서 발현되는 구조적으로 연관된, 물리적으로 결합된 NMDAR-MOR을 표적화함으로서 수행될 수 있다 (Zhang 등, 2020).

[0965] 결론적으로, 임상적으로 허용되는 NMDAR 채널 차단제의 효과는 생리학적 Mg^{2+} 차단의 존재하에 NR1-GluN2A 및 NR1-GluN2B 채널에서 관련이 없을 가능성이 있다. 특히, 과분극 상태에서는 GluN1-GluN2A 및 GluN1-GluN2B 아형의 완전한 Mg^{2+} 차단이 있고 (Kuner 및 Schoepfer, 1996의 도 1을 참조), 이는 과분극 상태에서 이러한 아형에 대한 비경쟁적 NMDAR 채널 차단제의 영향에 대한 잠재적인 여지가 없음을 시사한다. 생리학적 농도에서 Mg^{2+}는 Ca^{2+} 유입에 대해 100% 효과적인 게이팅을 수행하므로, 탈분극되지 않은 뉴런에서 LTP에 대한 GluN1-GluN2A 및 GluN2B 아형의 기여는 없다. 탈분극 사건이 없으면, 이러한 아형은 닫힌 상태로 유지된다: 이러한 아형은 기억 형성에 기여할 수 없다 (예를 들어, 탈분극 감각 사건이 없는 경우, 감각 박탈 동안).

[0966] 한편, GluN1-GluN2A 및 GluN2B 아형을 통한 Ca^{2+} 유입이 없는 이러한 과분극화된 뉴런은 과분극된 휴지 상태에서도 GluN1-GluN2C 및 GluN2D 아형의 불완전 차단이 있기 때문에 (Kuner 및 Schoepfer, 1996의 도 1을 참조), 대신에 Ca^{2+} 유입을 받을 수 있어, 어느 정도의 신경 가소성을 (일부 시냅스 단백질의 합성) 유지할 수 있다. 그러므로, 탈분극 현상이 없더라도, 이러한 아형은 Ca^{2+} 유입에 부분적으로 개방되어 유지되고 신경 가소성과 관련된 세포 기능을 지시할 수 있다. 예를 들어, 이들 아형은 탈분극 감각 현상이 없는 경우, 감각 박탈 중에도 기억 형성을 지시할 수 있다.

[0967] PAM 또는 작용제 (글루타메이트 및 글리신 이외의) 유무에 관계없이, 비탈분극성 글루타메이트 양의 과도한 시냅스 전 방출 또는 결함 클리어런스로 인한, 또한 GluN1-GluN2C 및 GluN2D 아형의 과도한 (병리학적) 또한 만성적인 (강장적) 활성화로 인한, 과도한 만성(강장성) 세포외 글루타메이트 농도의 경우, 본 발명자의 FLIPR에서 극복할 수 없는 프로파일을 갖는 것으로 나타난 (예시 1), 비경쟁적 NMDAR 채널 차단제의 Ca^{2+} 차단 효과에 대해 잠재적인 치료 여지가 있다.

[0968] 모든 데이터는 함께 MDD의 덱스트로메타돈에 대해 상기에 설명된 작용 메카니즘을 지원한다: 덱스트로메타돈은 강장적 및 병리학적 과활성 GluN1-GluN2C (및 잠재적으로 GluN1-GluN2D 아형), 특히 아편유사제 수용체와 물리적으로 결합된 (엔도르핀 경로의 일부) 강장적 및 병리학적 과활성 GluN1-GluN2C 및 GluN1-GluN2D 아형에 대해 선택적이다. 요약하면, MDD 및 관련 장애에 대한 질병-조절 치료제로서 덱스트로메타돈의 작용을 개시하는 증거는 예시 1-11로부터 유도된다.

[0969] 덱스트로메타돈은 또한 5-HT2A-5-HT2C 채널에 친화성을 갖는다 (Rickli 등, 2018). 이 친화도는 아편유사제 수용체에 대한 낮은 나노몰 친화성과 비교해 (Codd 등, 1995) 낮지만 [Rickli 등, 2018, 덱스트로메타돈은 5-HT2A 작용제(Ki 520 nM) 및 5-HT2C 작용제(Ki 1900 nM)라는 보고], 이는 잠재적으로 쉐퍼딩 친화성으로 작용할 수 있다. 5-HT2A 및 5-HT2C 채널에 대한 이러한 친화성은 아편유사제 수용체에 대해 설명된 아편유사제 쉐퍼딩 친화성 효과와 유사한 세로토닌 수용체 쉐퍼딩 효과를 초래할 수 있다. 따라서, 덱스트로메타돈은 세로토닌 및 아편유사제 시스템 모두와 연관된 NMDAR에 대해 선택적일 수 있다. 엔돌핀 및 세로토닌 시스템은 MDD의 병태생리학와 CNS 회로의 중심적인 신경전달물질 시스템으로 알려져 있으므로, 세로토닌 및/또는 아편유사제 수용체와 구조적으로 연관된 NMDAR의 우선적 표적화는 덱스트로메타돈의 치료 효과에 중요할 수 있다. 또한, 니코틴 수용체에 대한 친화도는 동일한 쉐퍼딩 메카니즘을 통해, 인지 기능의 선택된 지표에 대한 덱스트로메타돈의 긍정적인 영향을 잠재적으로 설명한다 (예시 3 및 예시 9).

[0970] **예시 11**

[0971] A. 서양 식이 요법을 받은 쥐에서 d-메타돈의 선택 효과

[0972] 동물과 관련된 모든 과정은 국내 및 국제 법률 및 정책을 존중하는 제도적 지침에 따라 실행되었다 (Council Directive of the European Economic Community 86/609, OJ L 358, 1, Dec.12, 1987; 실험 동물의 관리 및 사

용을 위한 NIH 가이드 (NIH Guide for the Care and Use of Laboratory Animals), NIH Publication No. 85-23, 1985). 연구 설계는 실험 동물의 관리 및 사용에 대해 Padua 대학교 윤리 위원회와 이탈리아 보건부의 승인을 받았다 (인증 번호 721/2017).

[0973] 수컷 Sprague-Dawley 쥐(200±50g)를 21° C의 온도에서 12시간의 빛과 12시간의 어둠 속에서 교대로 케이지 당 3마리 수용하였다. 적응 기간 후, 쥐를 적절하게 무작위로 선별된 두 그룹으로 나누었다: 표준 식이를 계속 섭취한 대조군과 지방 함량이 높은 식단을 (지방에서 60% kcal, 고지방 식단, HFD) 섭취한 또 다른 그룹. 이 식단은 또한 30%(w/V) 농도로 음용수에 과당이 포함되었다. HFD와 과당의 조합은 소위 "서양 식이"의 모델이다. 26주 후, HFD 식이의 쥐는 무작위로 2개의 하위 그룹으로 나뉘었다. 동물은 15일 동안 매일 위관영양법으로 각각 다음과 같이 처리되었다:

[0974] 수성 비히클 (서양 식이 하위 그룹);

[0975] d-메타돈 (10mg/kg 체중).

[0976] B. 간 염증에 대한 d-메타돈의 효과

[0977] 염증에 관여하는 3가지 사이토카인의 유전자 발현은 쥐의 간에서 qRT-PCR에 의해 측정되었다. 도 52A 및 도 52B를 참고로, 전염증성 인터루킨 IL-6 및 항염증성 인터루킨 IL-10의 유전자 발현은 서양 식이 투여에 의해 현저하게 증가되었고, 이는 간 염증의 증가를 나타내고, 가능하게 재생을 위한 간 노력을 동반하였다. 흥미롭게, d-메타돈 치료는 생리학적 IL-6 및 IL-10 발현을 회복하지 못하더라도 이러한 효과를 상쇄할 수 있었다. 또한, 염증과 간에서 면역 세포 모집에 관여하는 케모카인인 CCL2의 유전자 발현도 또한 표준 식이과 비교하여 서양 식이에 의해 증가되었다 (도 52C를 참조). D-메타돈 치료는 이러한 증가에 의미있는 영향을 미치지 않았지만, 서양 식이를 먹인 치료받지 않은 쥐에 비해 d-메타돈 치료 동물에서 감소하는 경향이 관찰될 수 있었다.

[0978] C. 간 상태 및 간 지질 대사에 대한 d-메타돈의 효과

[0979] 본 발명자는 또한 파라핀이 포매된 간 슬라이스의 헤마톡실린-에오신 염색에의해 간 조직의 조직학적 분석을 실행하였다. 조직학에서, 표준 식이를 섭취한 쥐는 정상적인 간 구조를 나타내는 반면 (도 53A), 전형적인 풍선 팽창과 함께 간 지방증을 유발하는 지질 축적은 서양 식이를 섭취한 쥐에서 관찰되었고 (도 53B, 화살표), 지방증의 감소는 d-메타돈으로 치료된 쥐에서 관찰될 수 있었다 (도 53C).

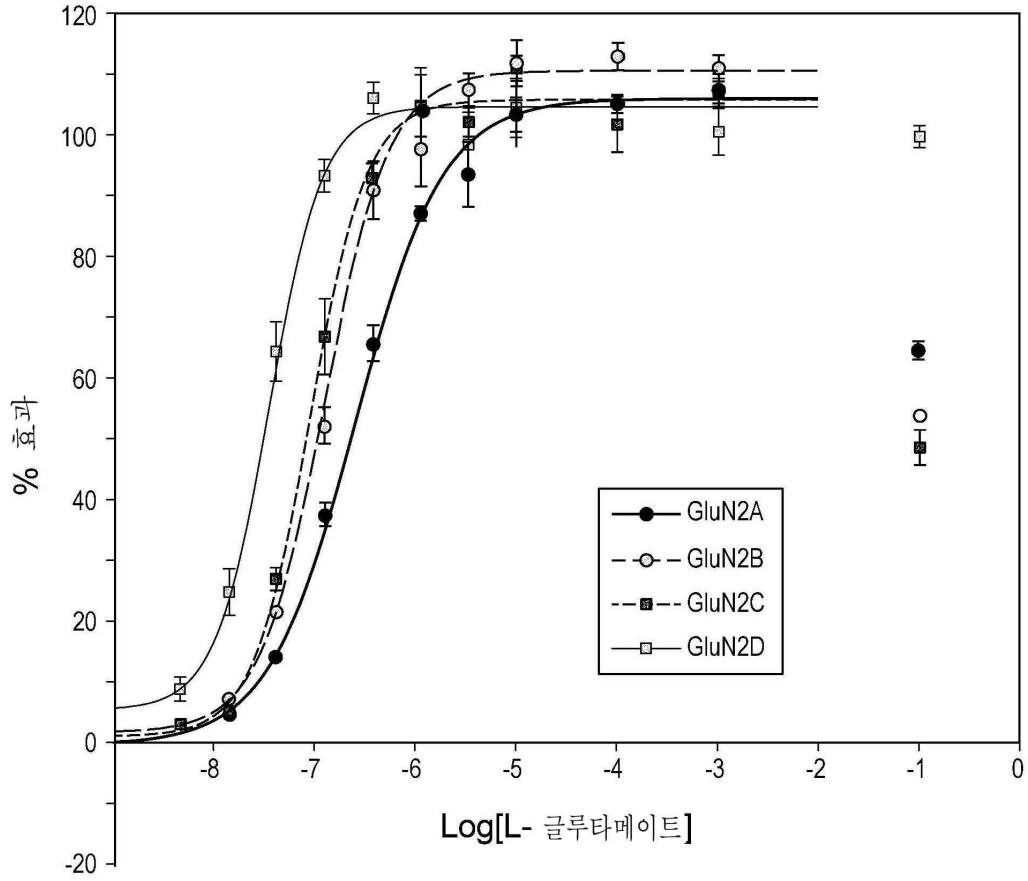
[0980] 간 지방증의 존재를 나타내는 조직학적 데이터를 지원하기 위해, 본 발명자는 qRT-PCR에 의해 지질 대사에 관여하는 2개의 유전자, 즉, GPAT4 및 SREPB2의 발현을 측정하였다. 예상대로, GPAT4 및 SREPB2 모두의 유전자 발현은 서양 식이 투여에 의해 현저하게 증가되었고, d-methadone 치료는 이러한 감소가 생리학적 수준을 회복하지 못하더라도 의미있는 발현 감소를 유발할 수 있었다 (도 54A 및 도 54B를 참조).

[0981] 덱스트로메타돈의 치료 스펙트럼에 잠재적 지표를 추가하는 것 이외에 (NAFLD 및 NASH), 이러한 데이터는 덱스트로메타돈 효과가 증상적일 뿐만 아니라 잠재적으로 질병을 조절한다는 것을 확인시킨다: 기분 장애에 대한 증상 치료는 염증 매개변수에 측정 가능한 효과를 발휘할 것으로 예상되지 않는다. 그러나, 질병 조절 치료는 MDD와 관련되거나 연관된 대사 및 염증 상태를 포함하여 생리병리학의 다른 측면을 잠재적으로 조절할 수 있다.

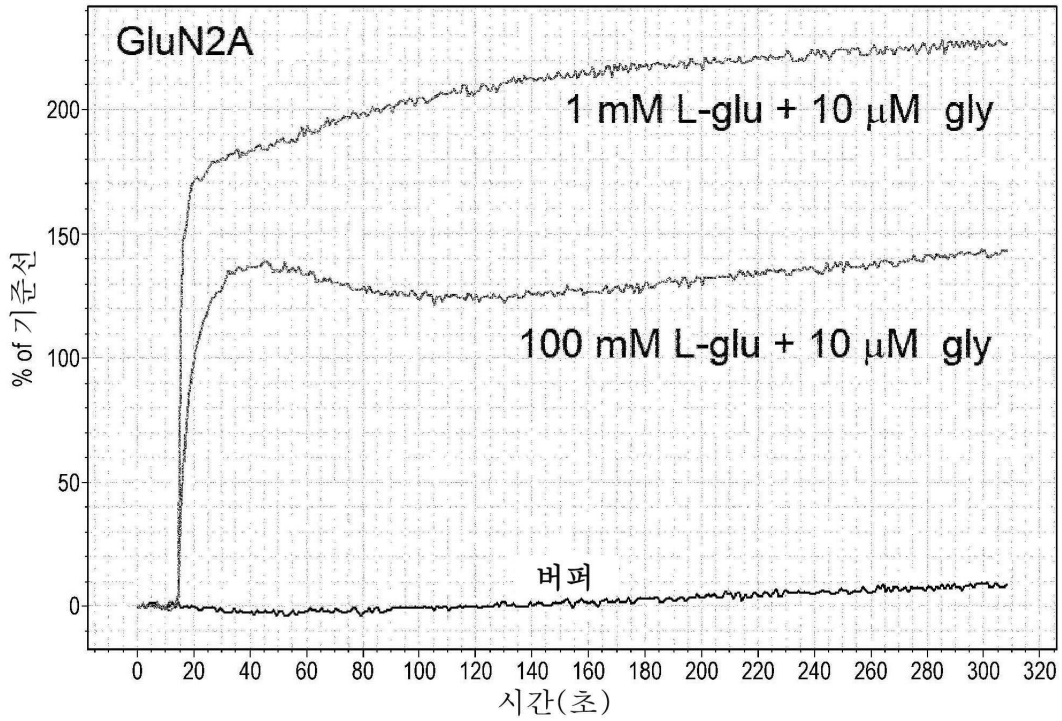
[0982] 본 발명은 본 발명의 바람직한 실시예의 상세 내용을 참조로 개시되었지만, 본 개시는 본 발명의 의도 및 수정된 청구항의 범위 내에서 종래 기술에 숙련된 자에게 용이하게 수정이 일어날 것으로 간주되므로, 제한적인 의미 보다는 예시적인 의미로 의도되는 것으로 이해되어야 한다.

도면

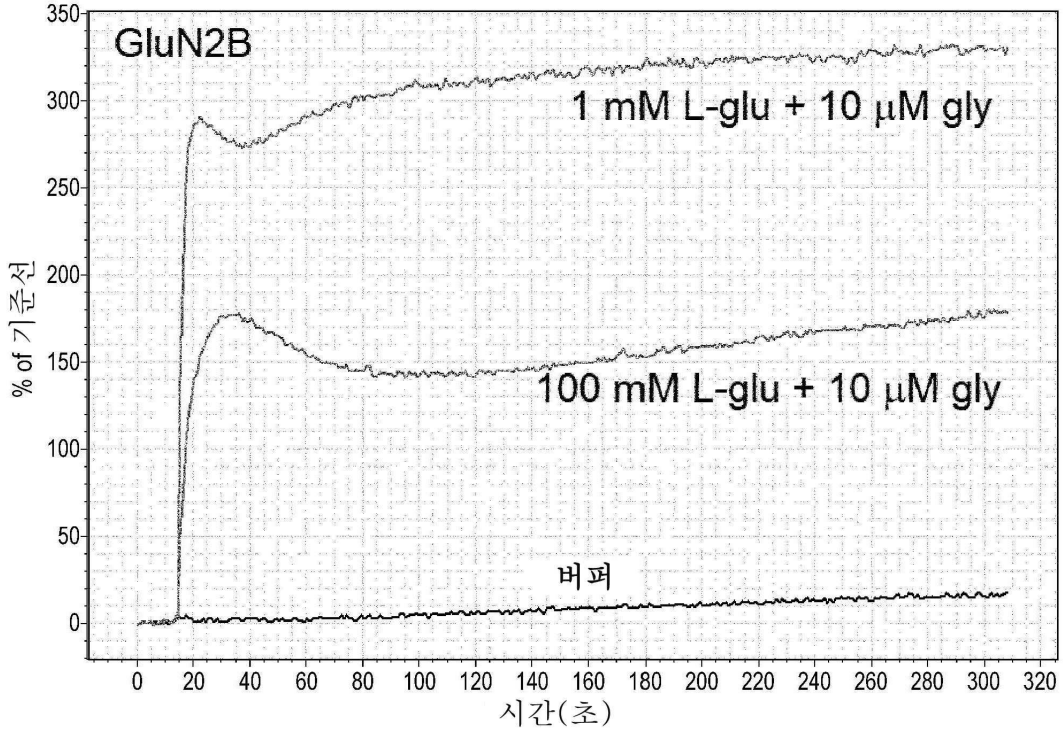
도면1


120
100
80
60
40
20
0
-20
% 효과
-8
-7
-6
-5
-4
-3
-2
-1
0
Log[L- 글루타메이트]
GluN2A
GluN2B
GluN2C
GluN2D

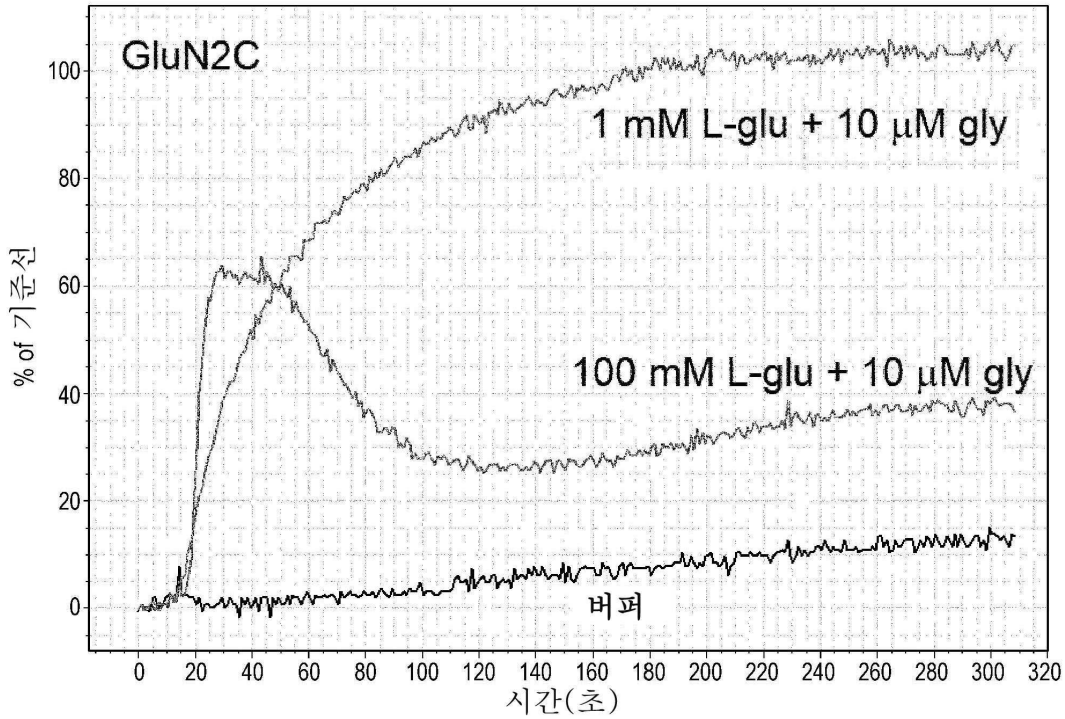
도면2a


GluN2A
1 mM L-glu + 10 μM gly
100 mM L-glu + 10 μM gly
버퍼
% of 기준선
시간(초)

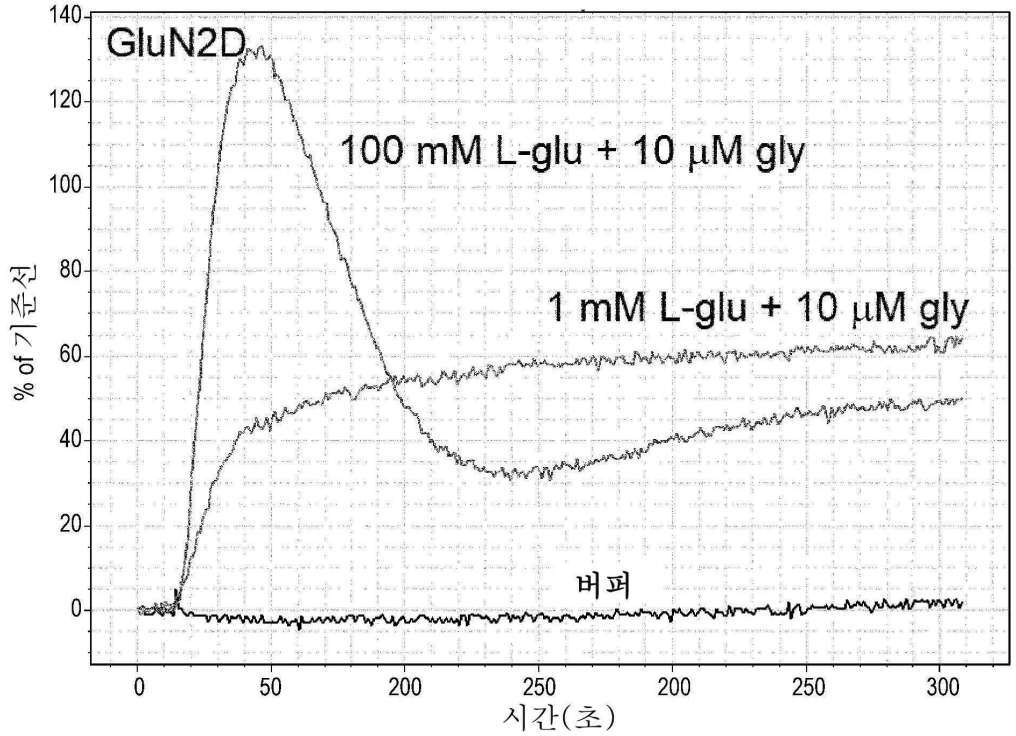
도면2b


GluN2B
1 mM L-glu + 10 μM gly
100 mM L-glu + 10 μM gly
버퍼
% of 기준선
시간(초)

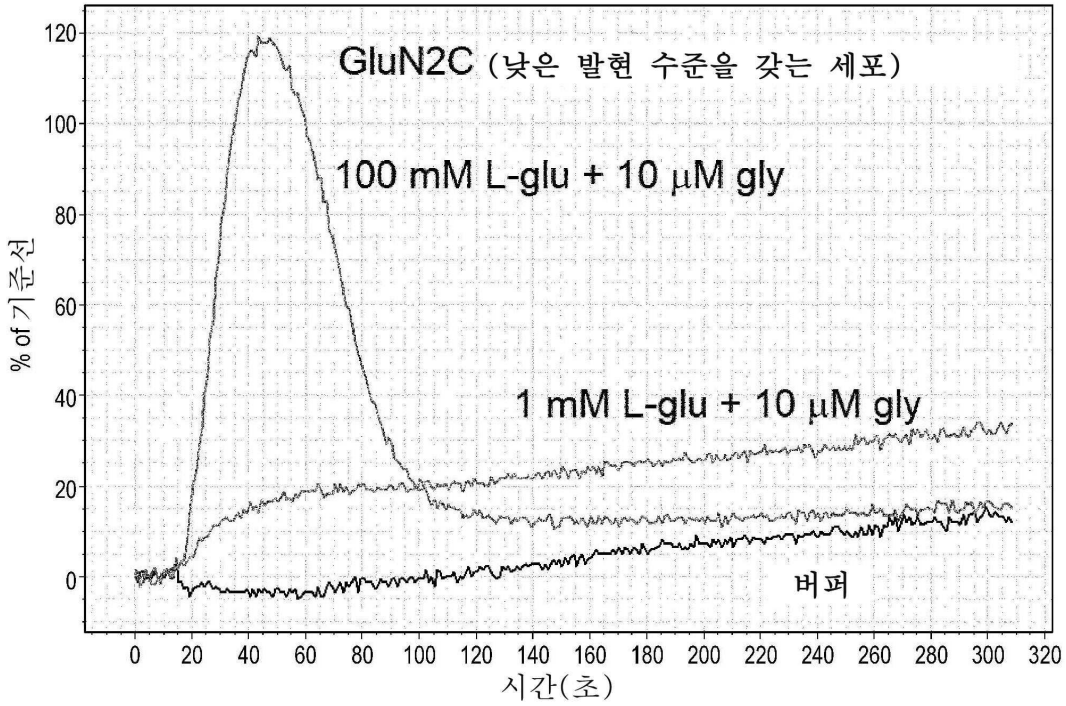
도면2c


GluN2C
1 mM L-glu + 10 μM gly
100 mM L-glu + 10 μM gly
버퍼
% of 기준선
시간(초)

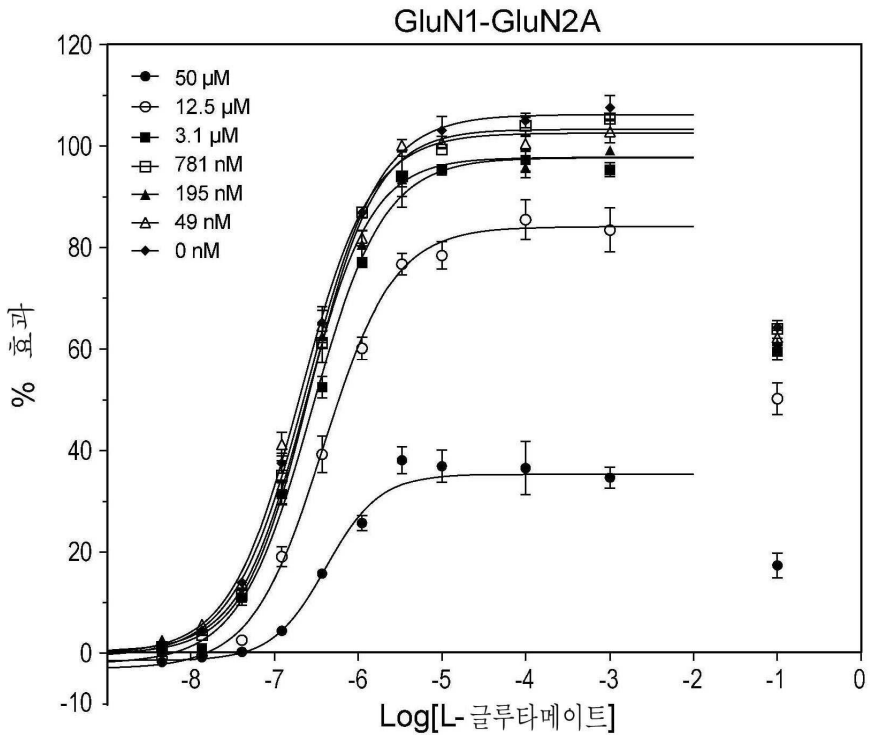
도면2d


GluN2D
100 mM L-glu + 10 μM gly
1 mM L-glu + 10 μM gly
버퍼
% of 기준선
시간(초)

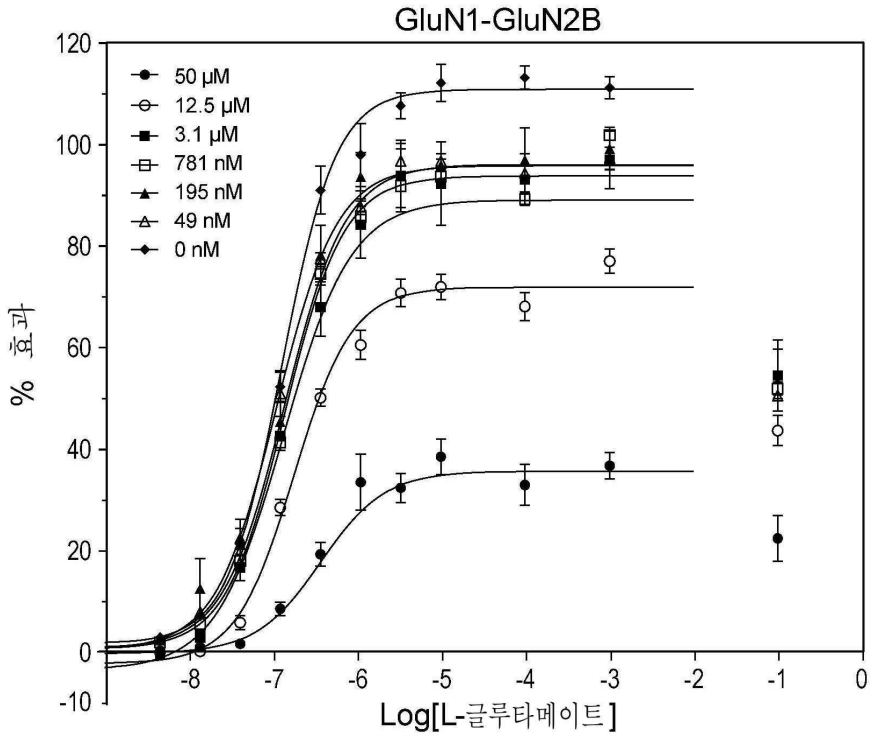
도면2e


GluN2C (낮은 발현 수준을 갖는 세포)
100 mM L-glu + 10 μM gly
1 mM L-glu + 10 μM gly
버퍼
% of 기준선
시간(초)

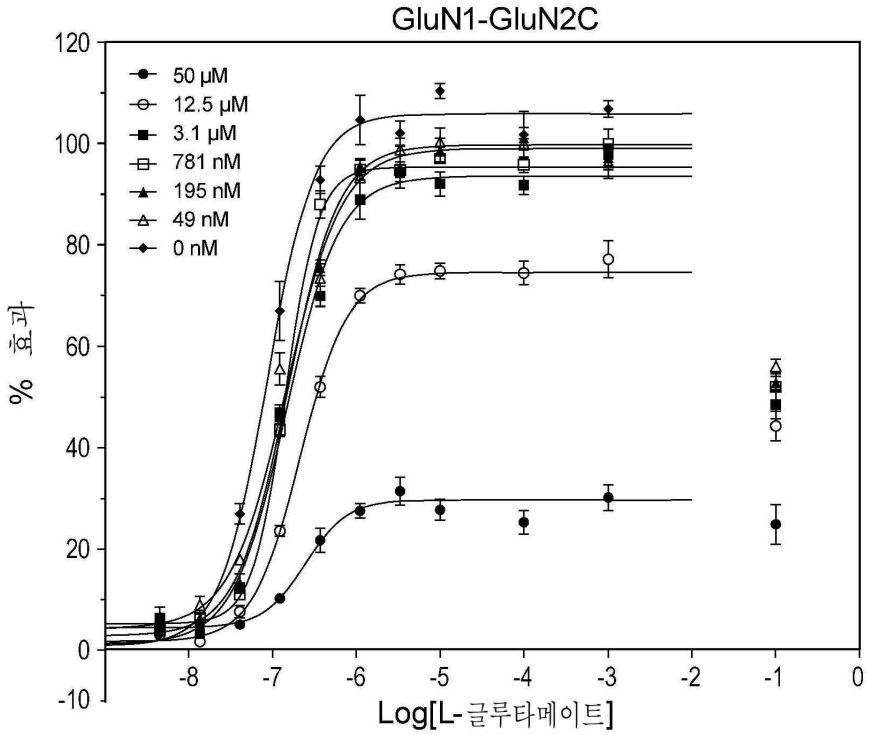
도면3a


GluN1-GluN2A
50 μM
12.5 μM
3.1 μM
781 nM
195 nM
49 nM
0 nM
% 효과
Log[L-글루타메이트]

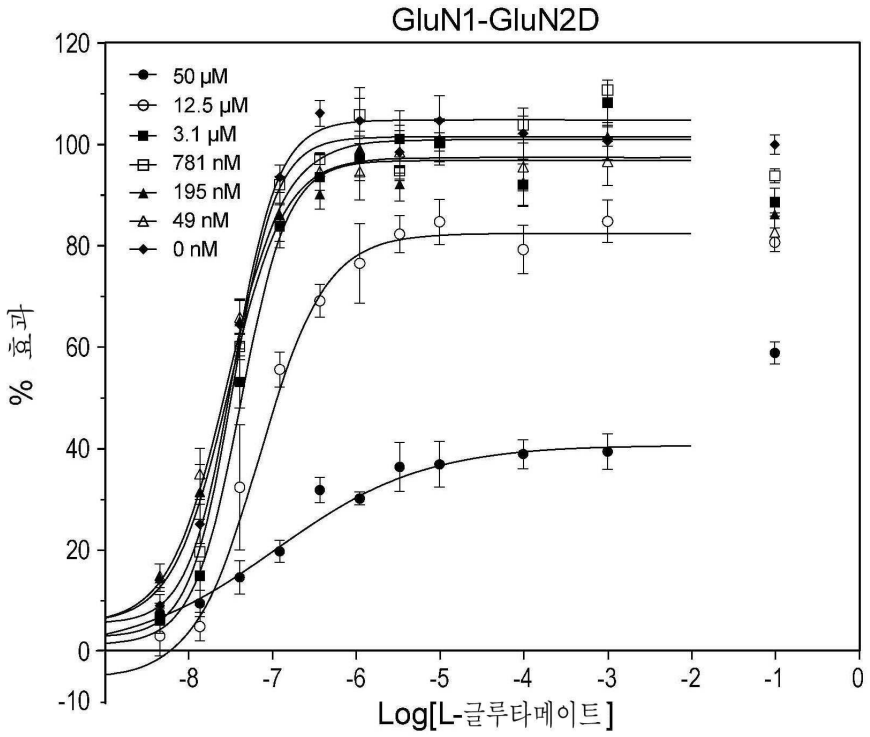
도면3b


GluN1-GluN2B
50 μM
12.5 μM
3.1 μM
781 nM
195 nM
49 nM
0 nM
% 효과
120
100
80
60
40
20
0
-10
-8
-7
-6
-5
-4
-3
-2
-1
0
Log[L-글루타메이트]

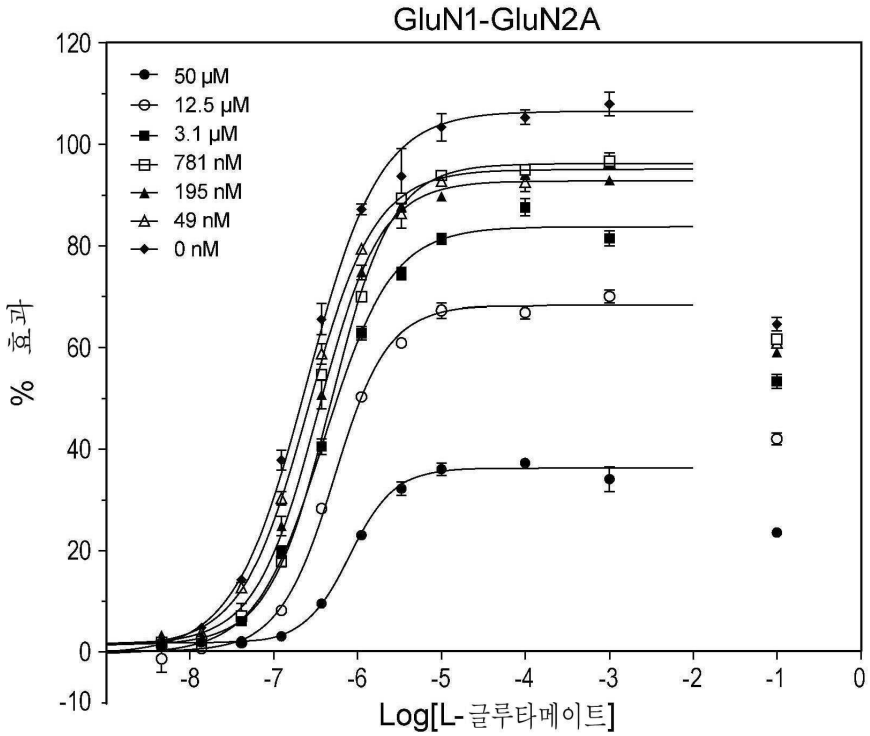
도면3c


GluN1-GluN2C
50 μM
12.5 μM
3.1 μM
781 nM
195 nM
49 nM
0 nM
% 효과
120
100
80
60
40
20
0
-10
-8
-7
-6
-5
-4
-3
-2
-1
0
Log[L-글루타메이트]

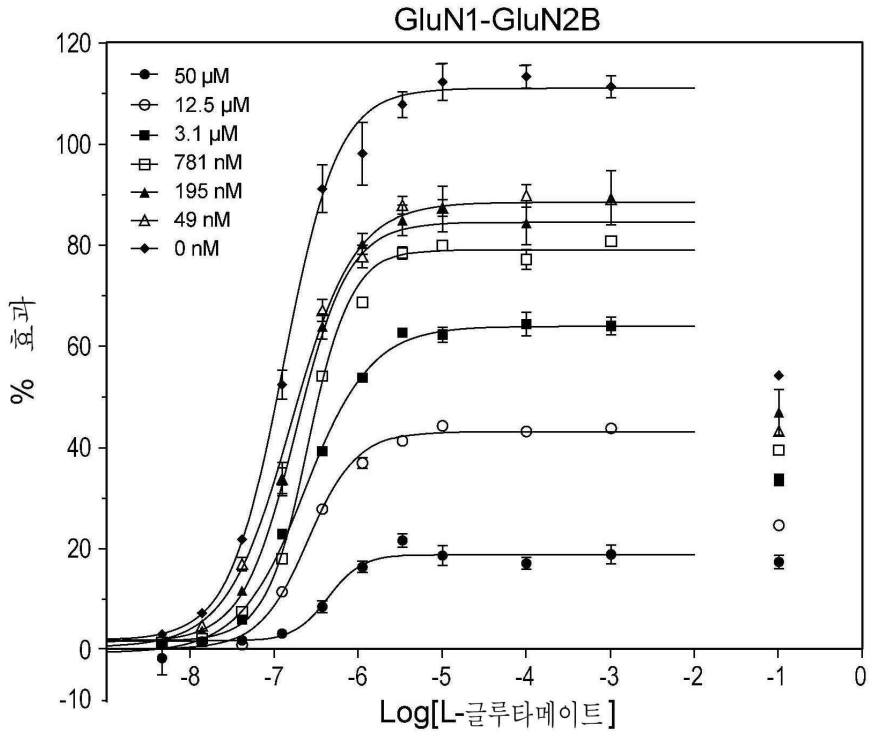
도면3d


GluN1-GluN2D
50 μM
12.5 μM
3.1 μM
781 nM
195 nM
49 nM
0 nM
% 효과
Log[L-글루타메이트]

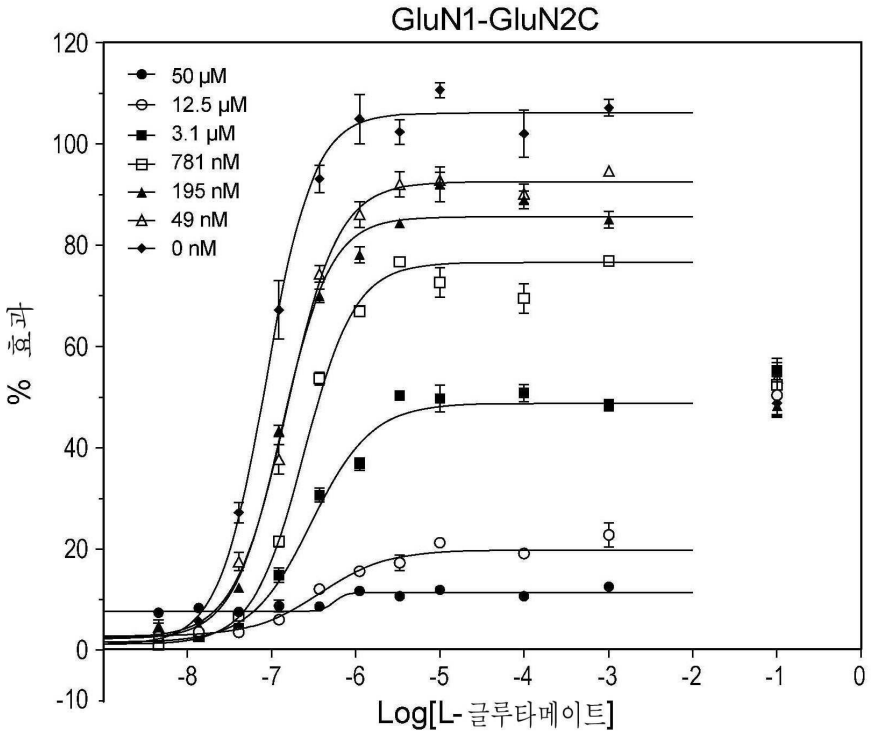
도면4a


GluN1-GluN2A
50 μM
12.5 μM
3.1 μM
781 nM
195 nM
49 nM
0 nM
% 효과
Log[L-글루타메이트]

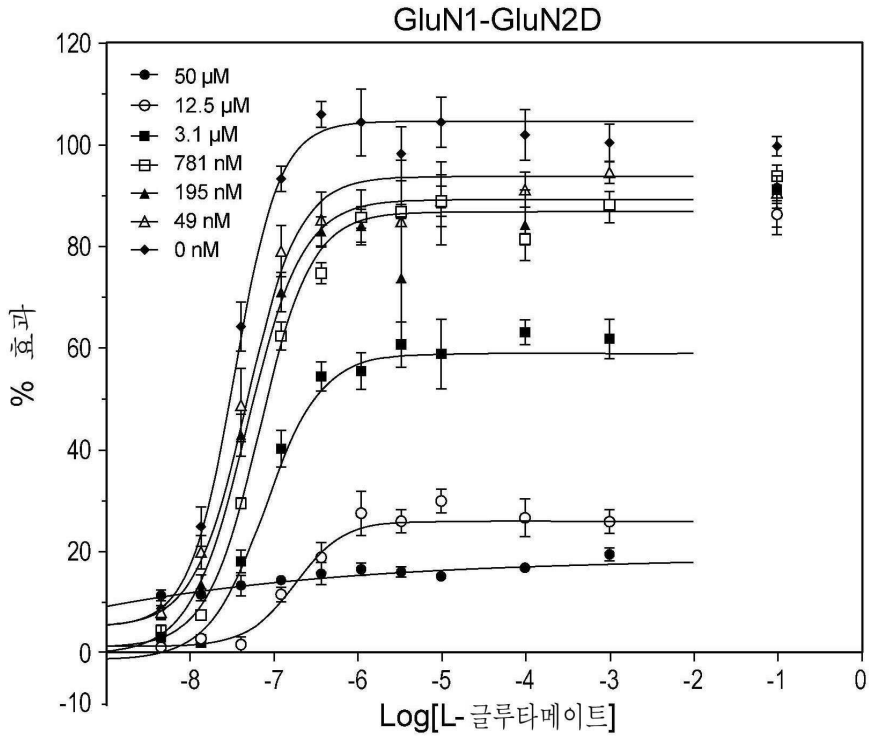
도면4b


GluN1-GluN2B
50 μM
12.5 μM
3.1 μM
781 nM
195 nM
49 nM
0 nM
% 효과
120
100
80
60
40
20
0
-10
-8
-7
-6
-5
-4
-3
-2
-1
0
Log[L-글루타메이트]

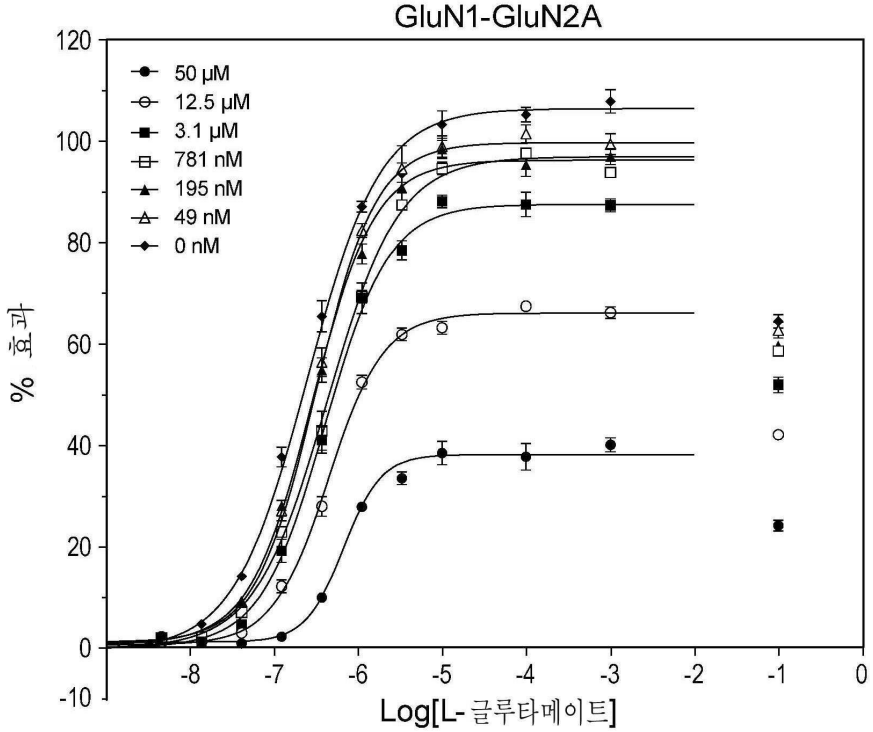
도면4c


GluN1-GluN2C
50 μM
12.5 μM
3.1 μM
781 nM
195 nM
49 nM
0 nM
% 효과
120
100
80
60
40
20
0
-10
-8
-7
-6
-5
-4
-3
-2
-1
0
Log[L-글루타메이트]

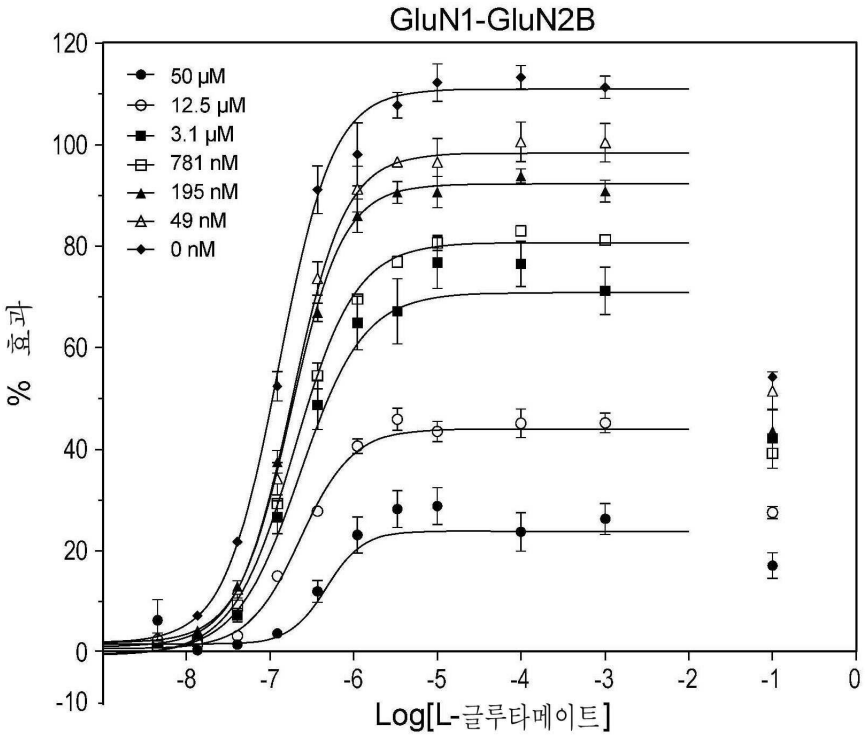
도면4d


GluN1-GluN2D
50 μM
12.5 μM
3.1 μM
781 nM
195 nM
49 nM
0 nM
% 효과
Log[L-글루타메이트]

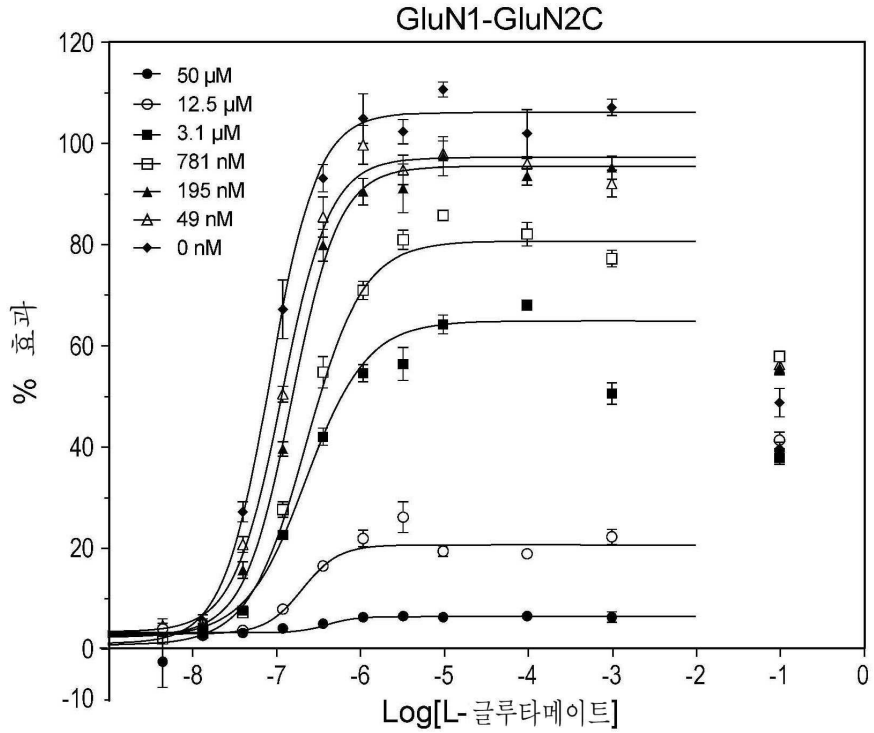
도면5a


GluN1-GluN2A
50 μM
12.5 μM
3.1 μM
781 nM
195 nM
49 nM
0 nM
% 효과
Log[L-글루타메이트]

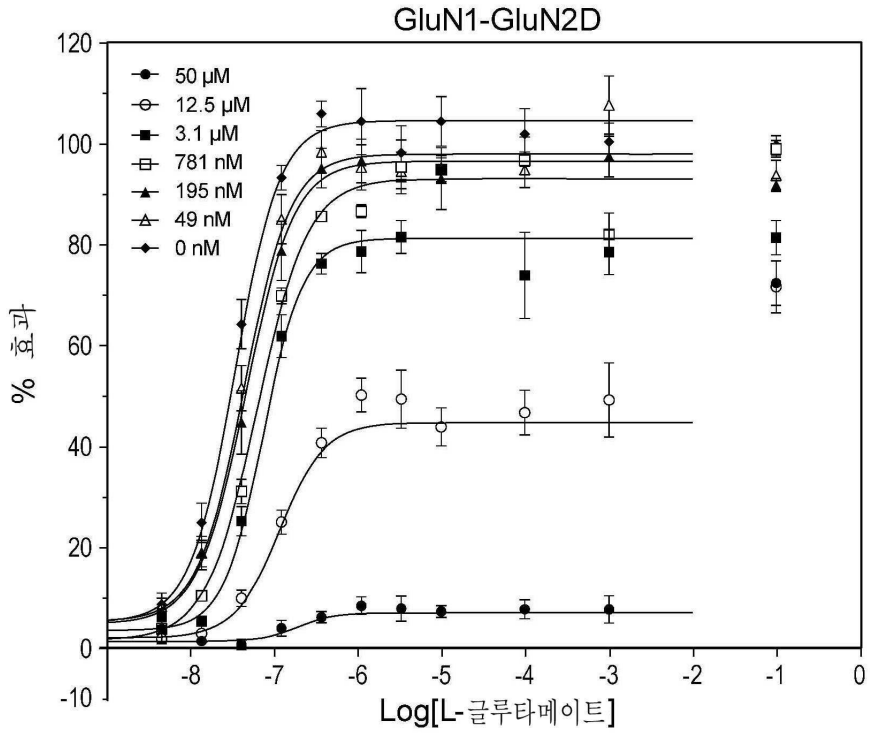
도면5b


GluN1-GluN2B
50 μM
12.5 μM
3.1 μM
781 nM
195 nM
49 nM
0 nM
% 효과
Log[L-글루타메이트]

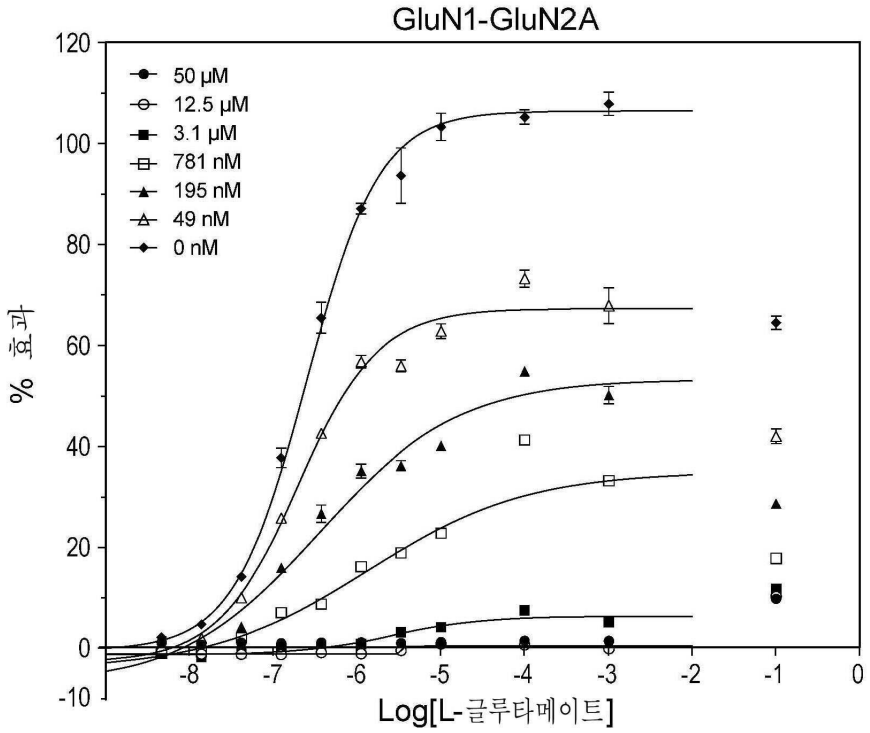
도면5c


GluN1-GluN2C
50 μM
12.5 μM
3.1 μM
781 nM
195 nM
49 nM
0 nM
% 효과
Log[L-글루타메이트]

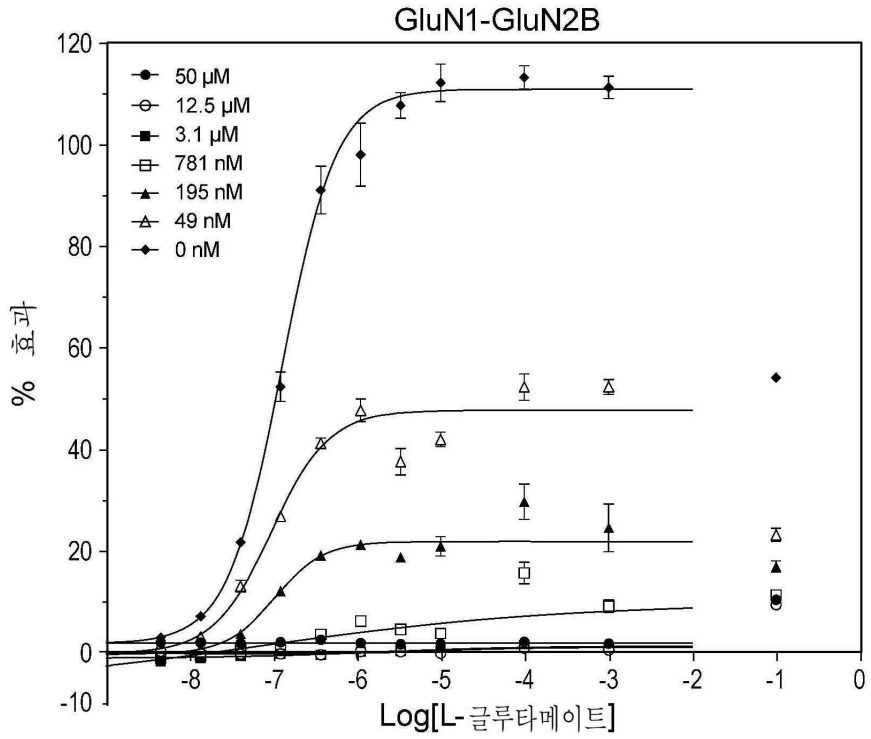
도면5d


GluN1-GluN2D
50 μM
12.5 μM
3.1 μM
781 nM
195 nM
49 nM
0 nM
% 효과
Log[L-글루타메이트]

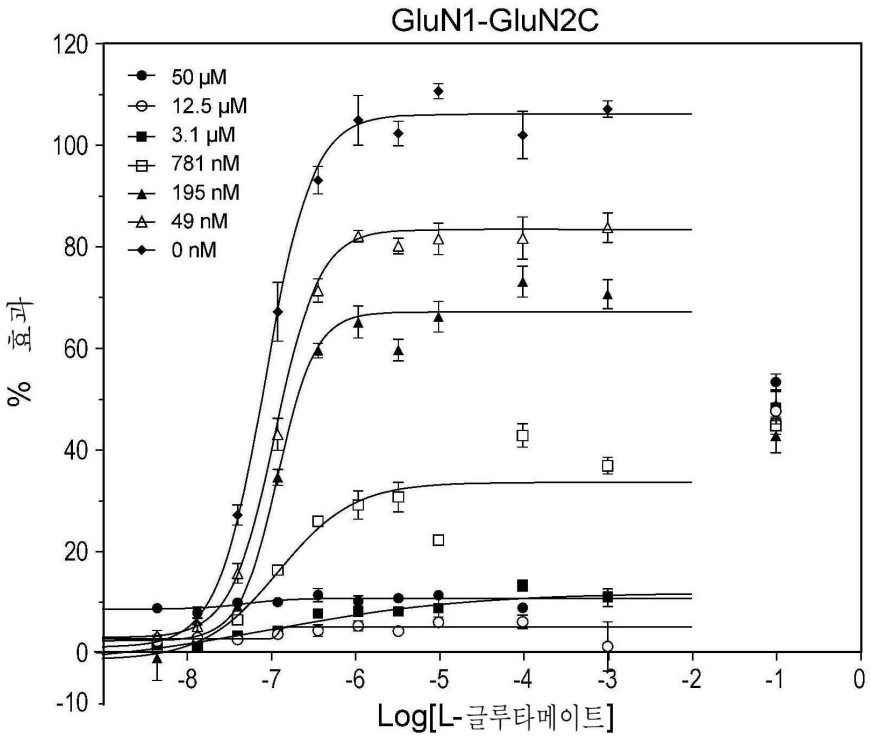
도면6a


GluN1-GluN2A
50 μM
12.5 μM
3.1 μM
781 nM
195 nM
49 nM
0 nM
% 효과
Log[L-글루타메이트]

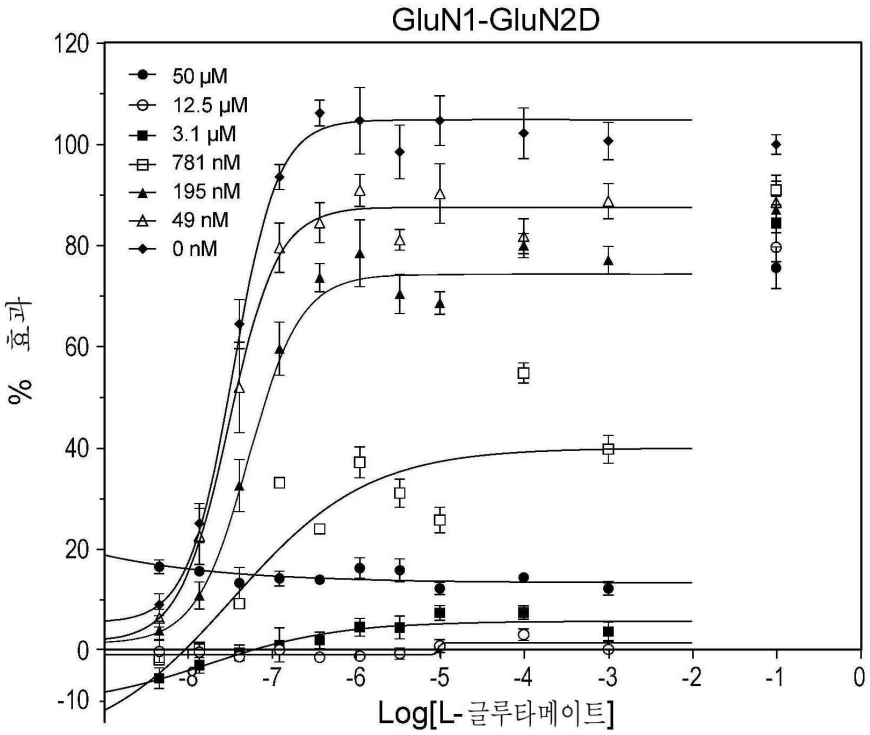
도면6b


GluN1-GluN2B
50 μM
12.5 μM
3.1 μM
781 nM
195 nM
49 nM
0 nM
% 효과
Log[L-글루타메이트]

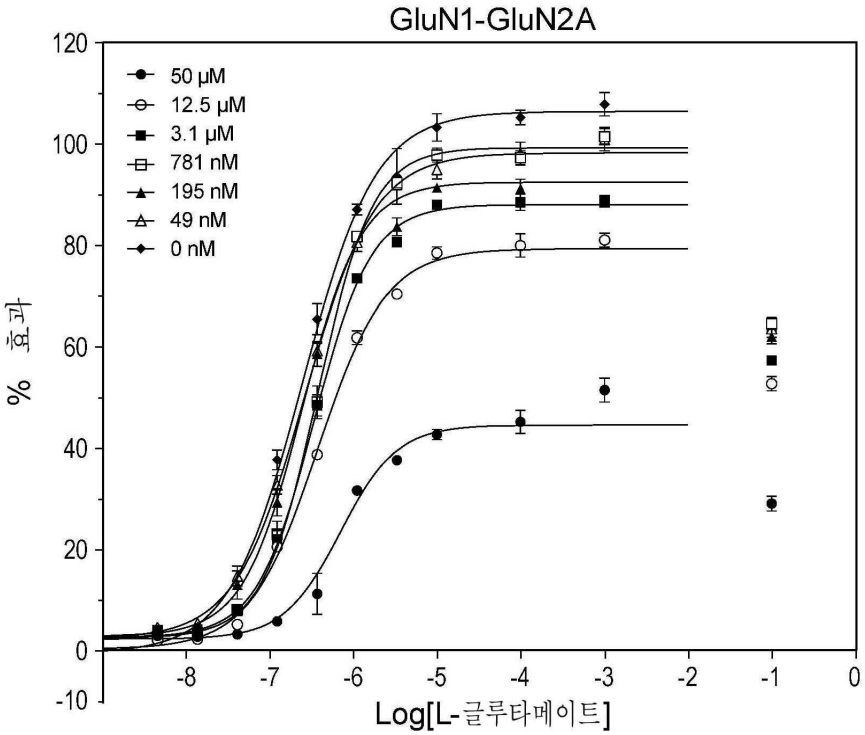
도면6c


GluN1-GluN2C
50 μM
12.5 μM
3.1 μM
781 nM
195 nM
49 nM
0 nM
% 효과
Log[L-글루타메이트]

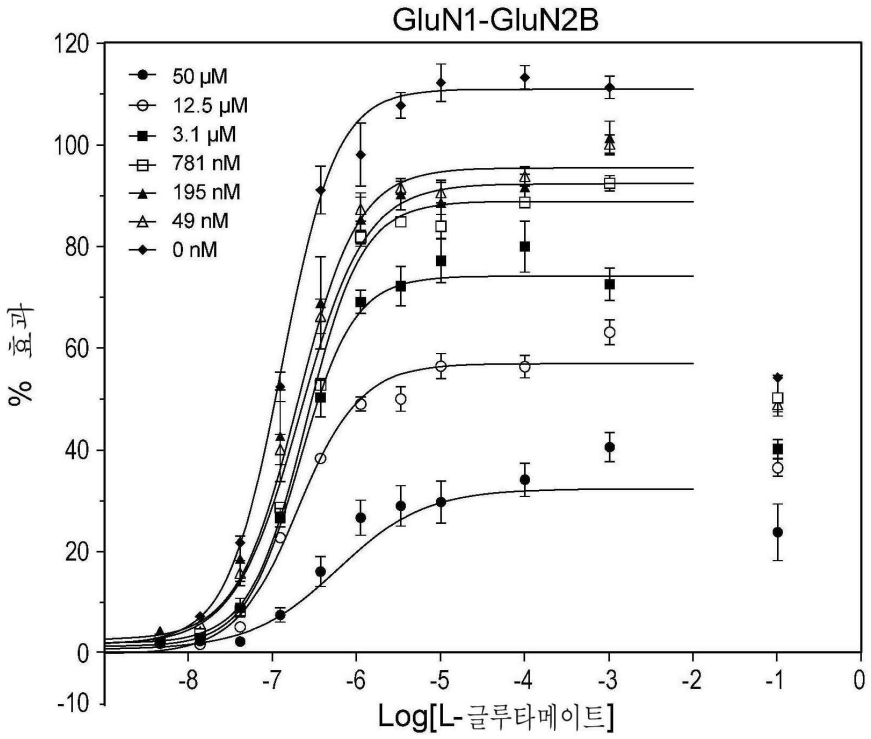
도면6d


GluN1-GluN2D
50 μM
12.5 μM
3.1 μM
781 nM
195 nM
49 nM
0 nM
% 효과
Log[L-글루타메이트]

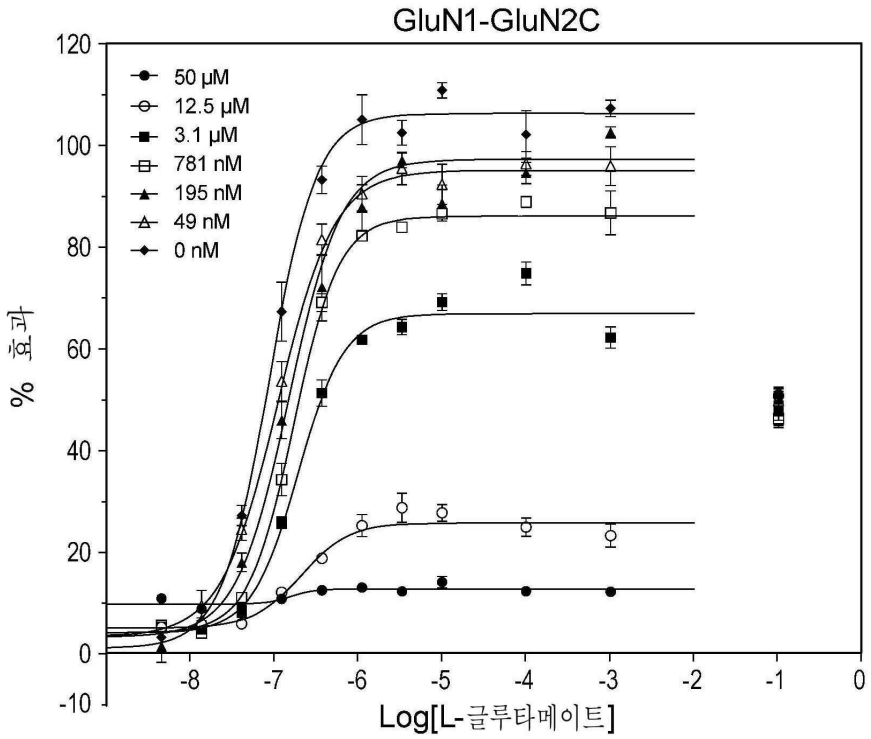
도면7a


GluN1-GluN2A
50 μM
12.5 μM
3.1 μM
781 nM
195 nM
49 nM
0 nM
% 효과
Log[L-글루타메이트]

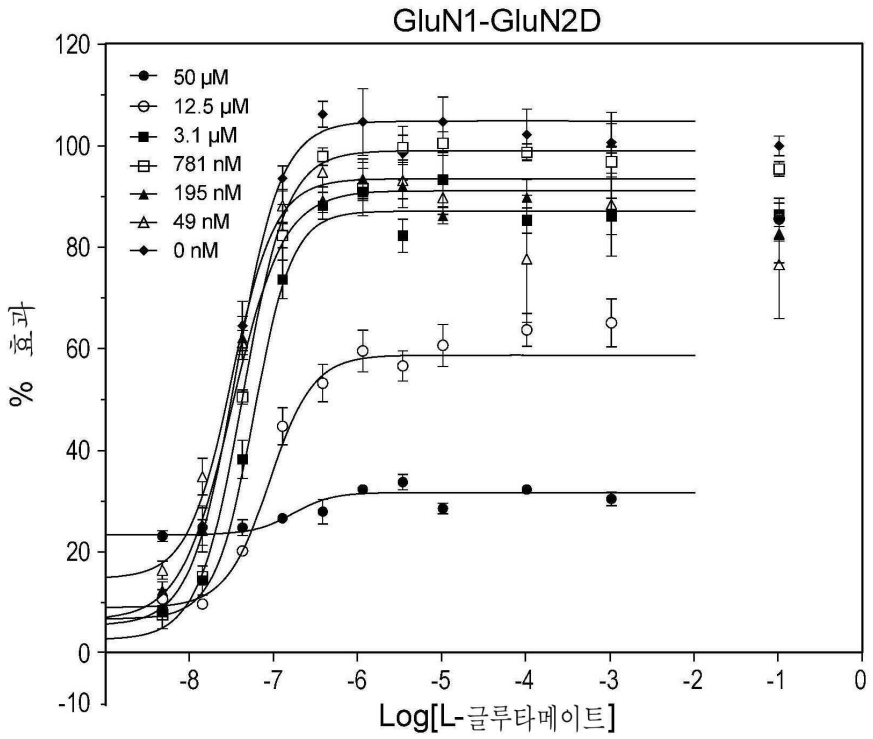
도면7b


GluN1-GluN2B
50 μM
12.5 μM
3.1 μM
781 nM
195 nM
49 nM
0 nM
% 효과
120
100
80
60
40
20
0
-10
-8
-7
-6
-5
-4
-3
-2
-1
0
Log[L-글루타메이트]

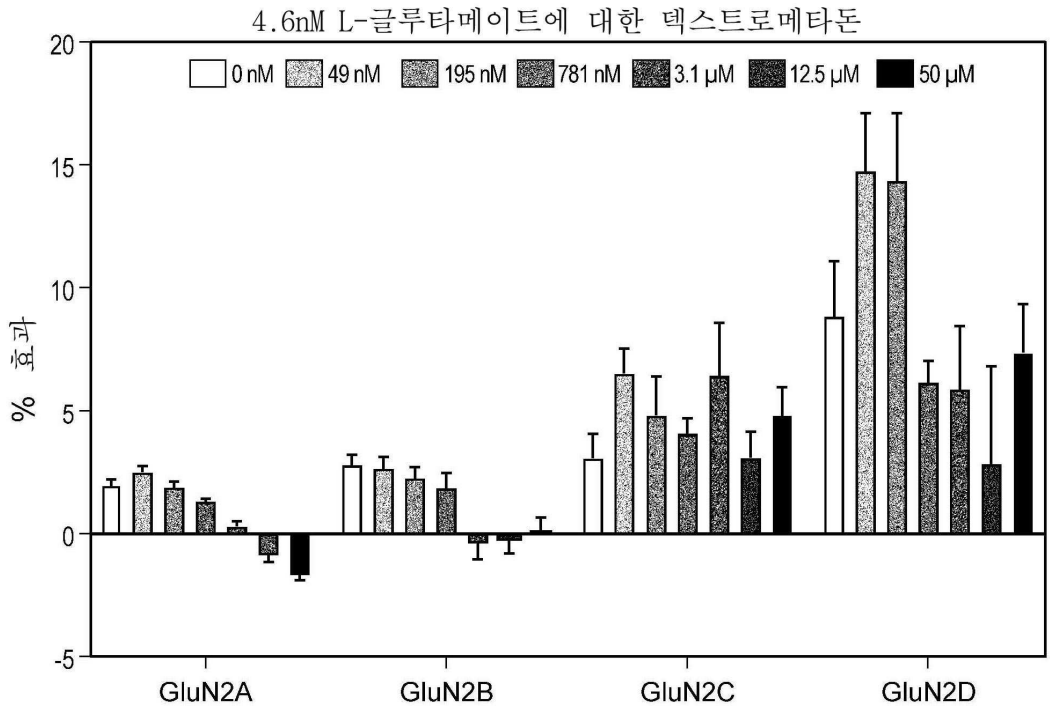
도면7c


GluN1-GluN2C
50 μM
12.5 μM
3.1 μM
781 nM
195 nM
49 nM
0 nM
% 효과
120
100
80
60
40
20
0
-10
-8
-7
-6
-5
-4
-3
-2
-1
0
Log[L-글루타메이트]

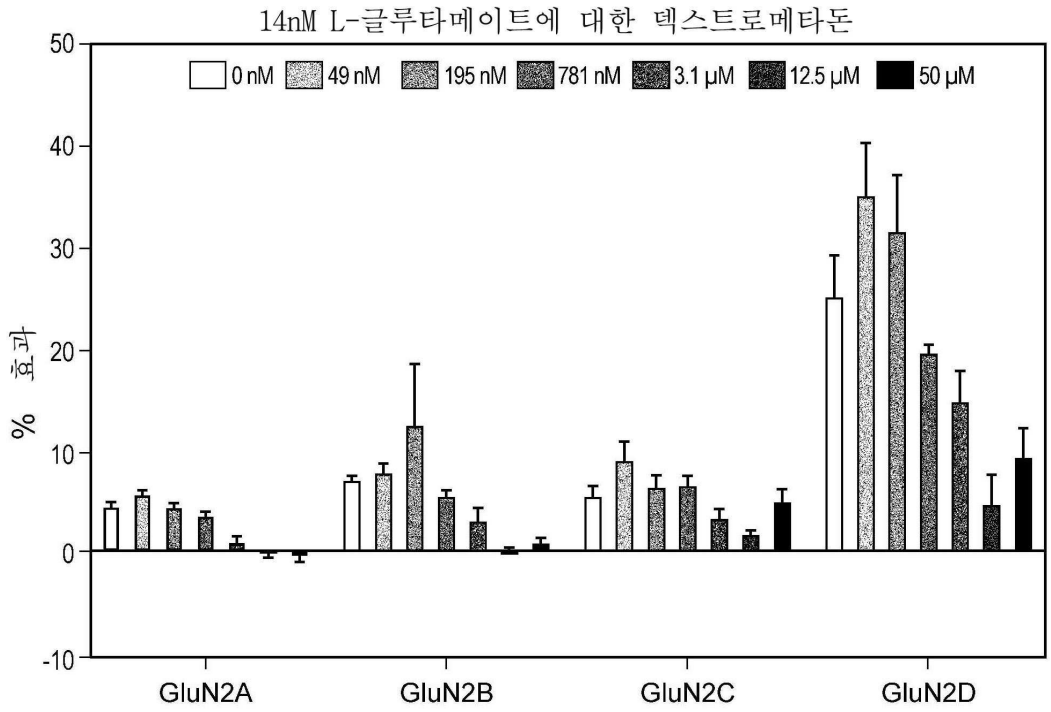
도면7d


GluN1-GluN2D
50 μM
12.5 μM
3.1 μM
781 nM
195 nM
49 nM
0 nM
% 효과
120
100
80
60
40
20
0
-10
-8
-7
-6
-5
-4
-3
-2
-1
0
Log[L-글루타메이트]

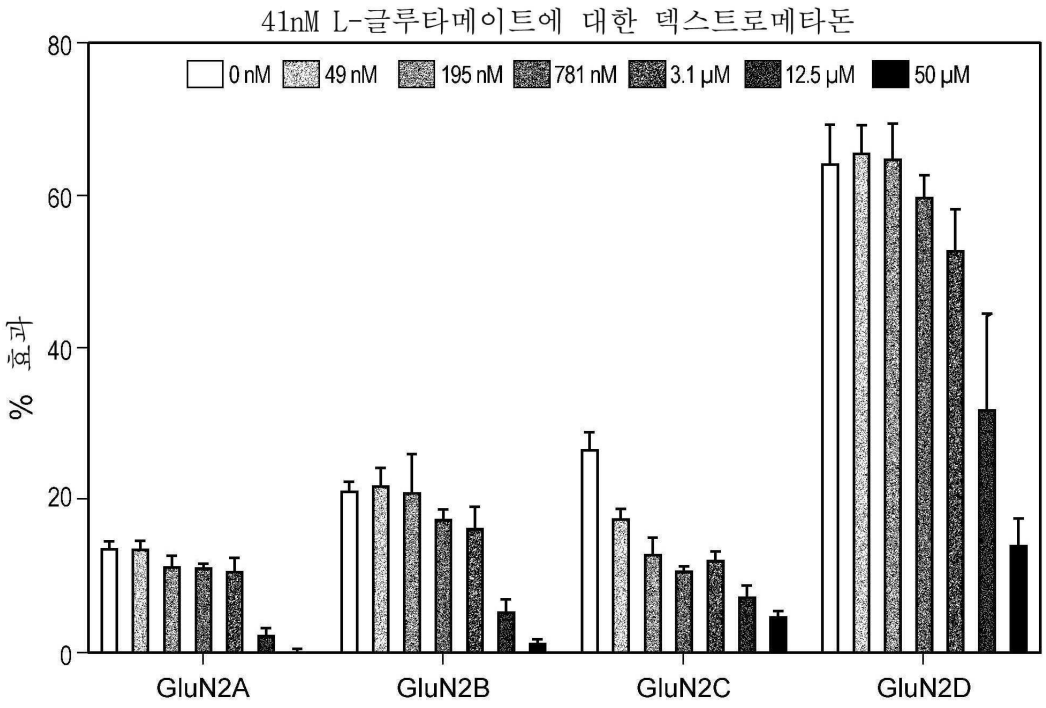
도면8a


4.6nM L-글루타메이트에 대한 덱스트로메타돈
0 nM
49 nM
195 nM
781 nM
3.1 μM
12.5 μM
50 μM
% 효과
20
15
10
5
0
-5
GluN2A
GluN2B
GluN2C
GluN2D

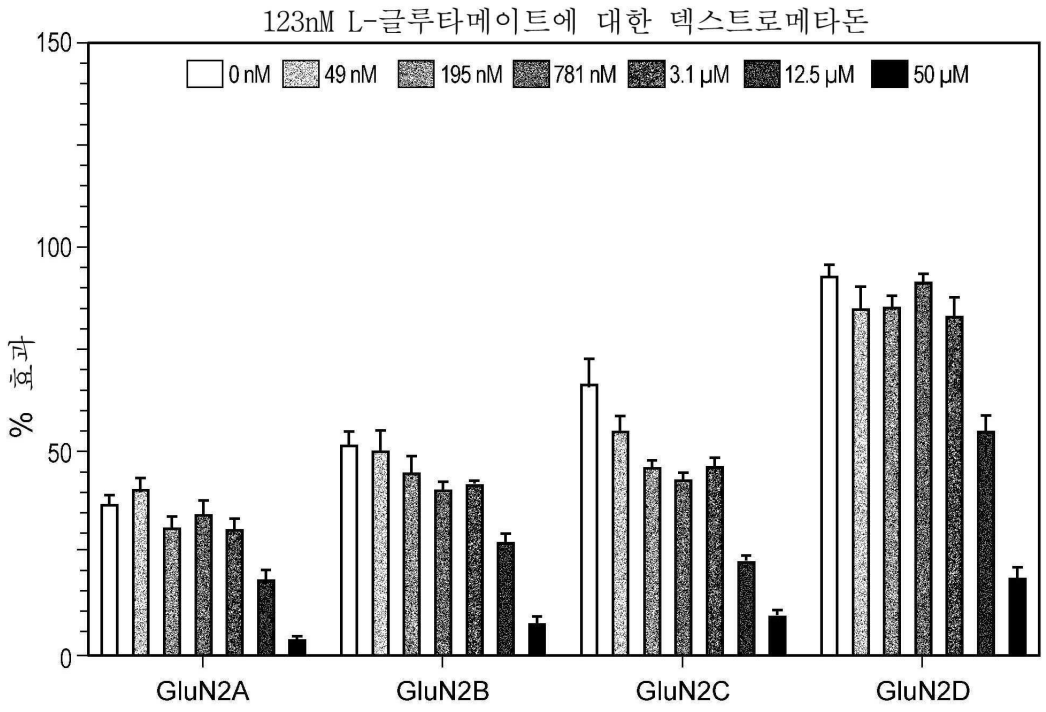
도면8b


14nM L-글루타메이트에 대한 덱스트로메타돈
0 nM
49 nM
195 nM
781 nM
3.1 μM
12.5 μM
50 μM
% 효과
50
40
30
20
10
0
-10
GluN2A
GluN2B
GluN2C
GluN2D

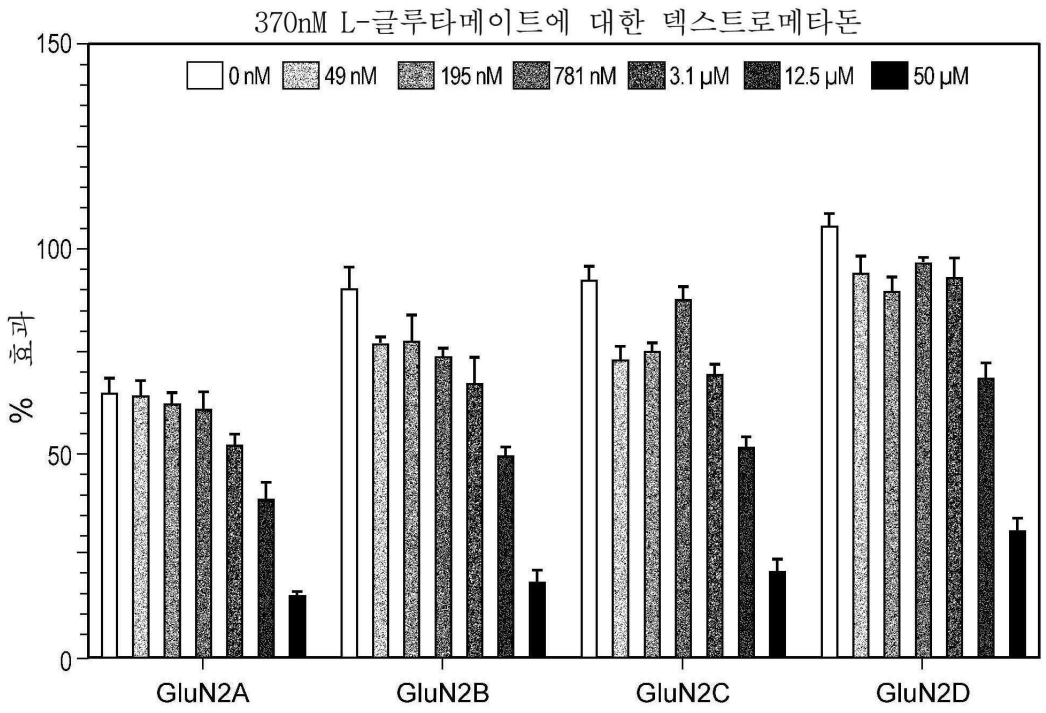
도면8c


41nM L-글루타메이트에 대한 덱스트로메타돈
0 nM
49 nM
195 nM
781 nM
3.1 μM
12.5 μM
50 μM
% 효과
80
60
40
20
0
GluN2A
GluN2B
GluN2C
GluN2D

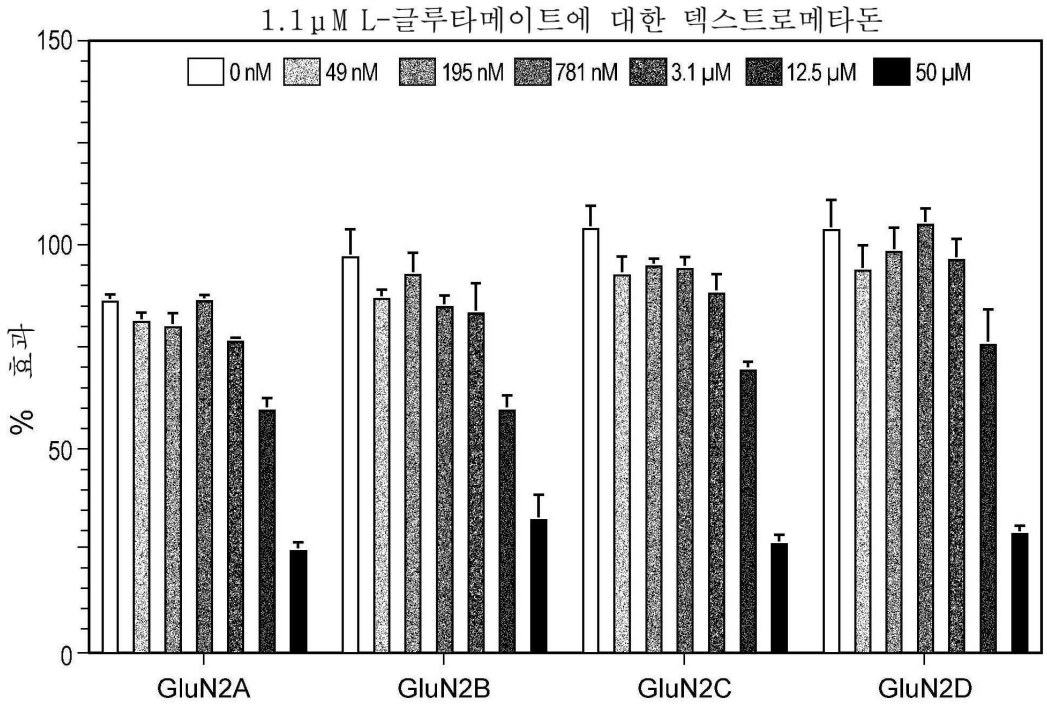
도면8d


123nM L-글루타메이트에 대한 덱스트로메타돈
0 nM
49 nM
195 nM
781 nM
3.1 μM
12.5 μM
50 μM
150
100
50
0
% 효과
GluN2A
GluN2B
GluN2C
GluN2D

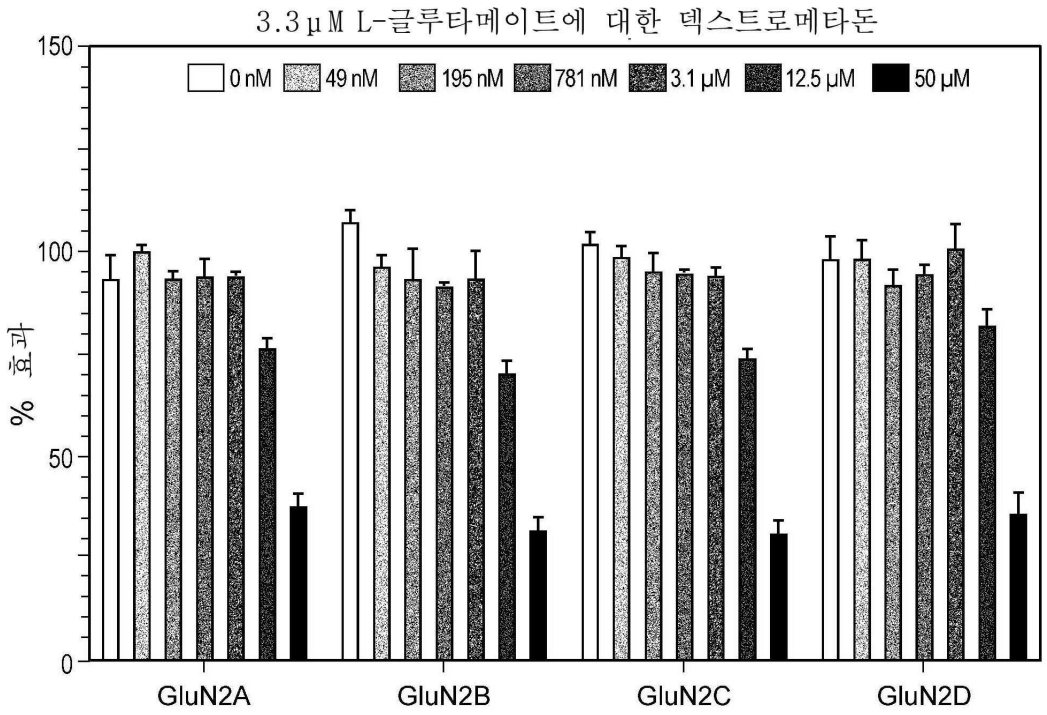
도면8e


370nM L-글루타메이트에 대한 덱스트로메타돈
0 nM
49 nM
195 nM
781 nM
3.1 μM
12.5 μM
50 μM
150
100
50
0
% 효과
GluN2A
GluN2B
GluN2C
GluN2D

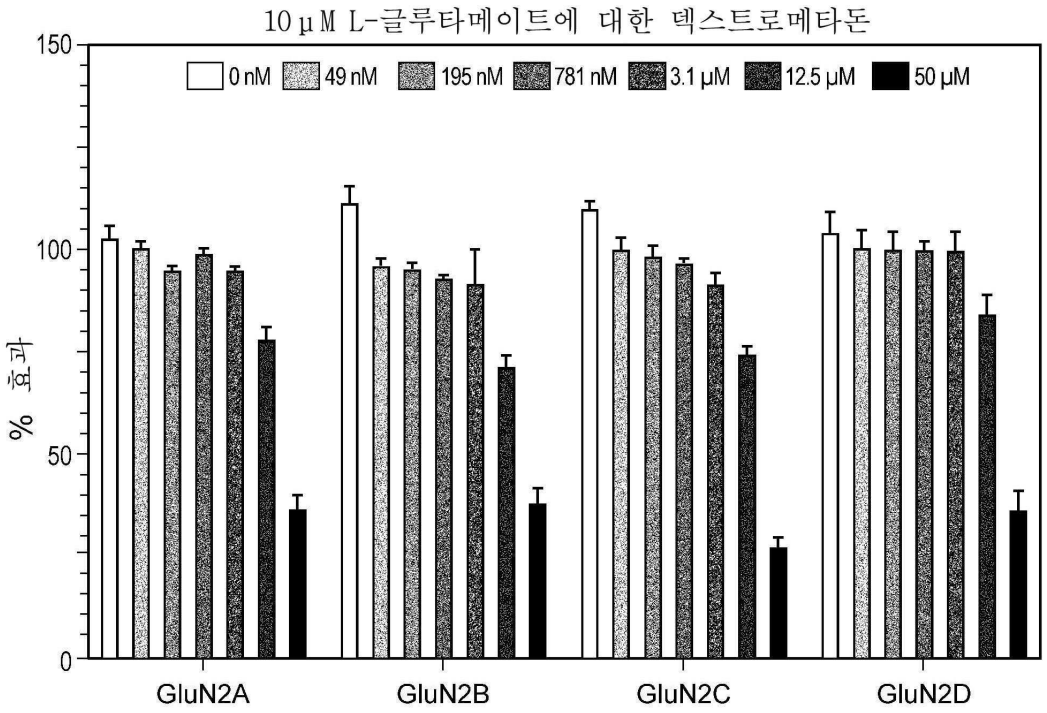
도면8f


1.1μM L-글루타메이트에 대한 덱스트로메타돈
0 nM
49 nM
195 nM
781 nM
3.1 μM
12.5 μM
50 μM
% 효과
150
100
50
0
GluN2A
GluN2B
GluN2C
GluN2D

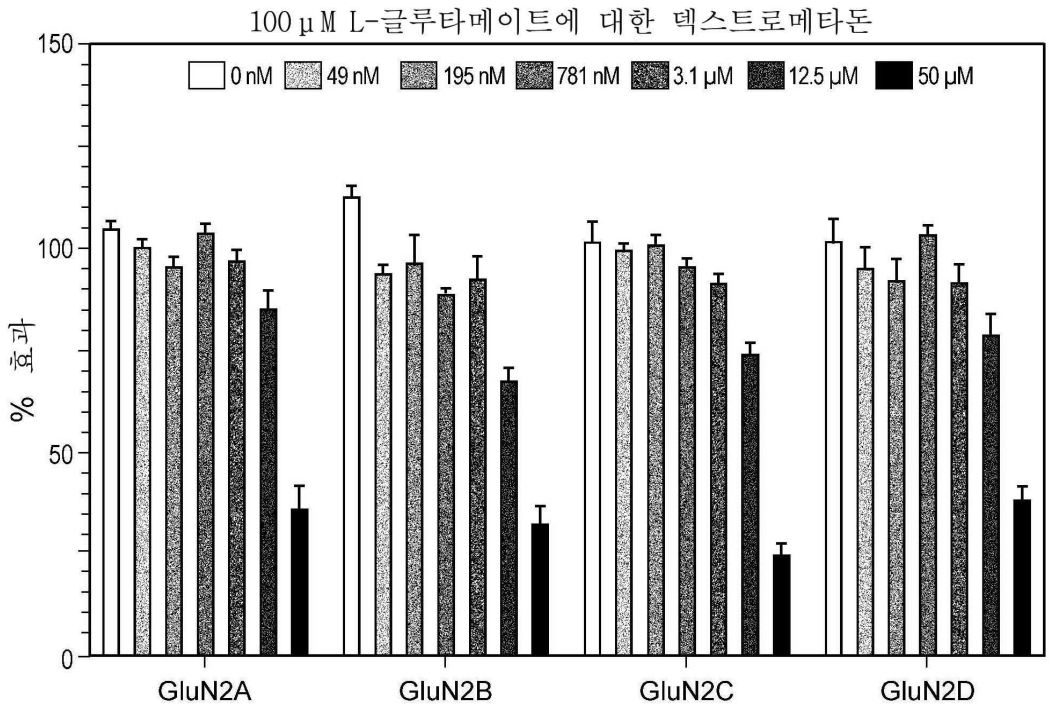
도면8g


3.3μM L-글루타메이트에 대한 덱스트로메타돈
0 nM
49 nM
195 nM
781 nM
3.1 μM
12.5 μM
50 μM
% 효과
150
100
50
0
GluN2A
GluN2B
GluN2C
GluN2D

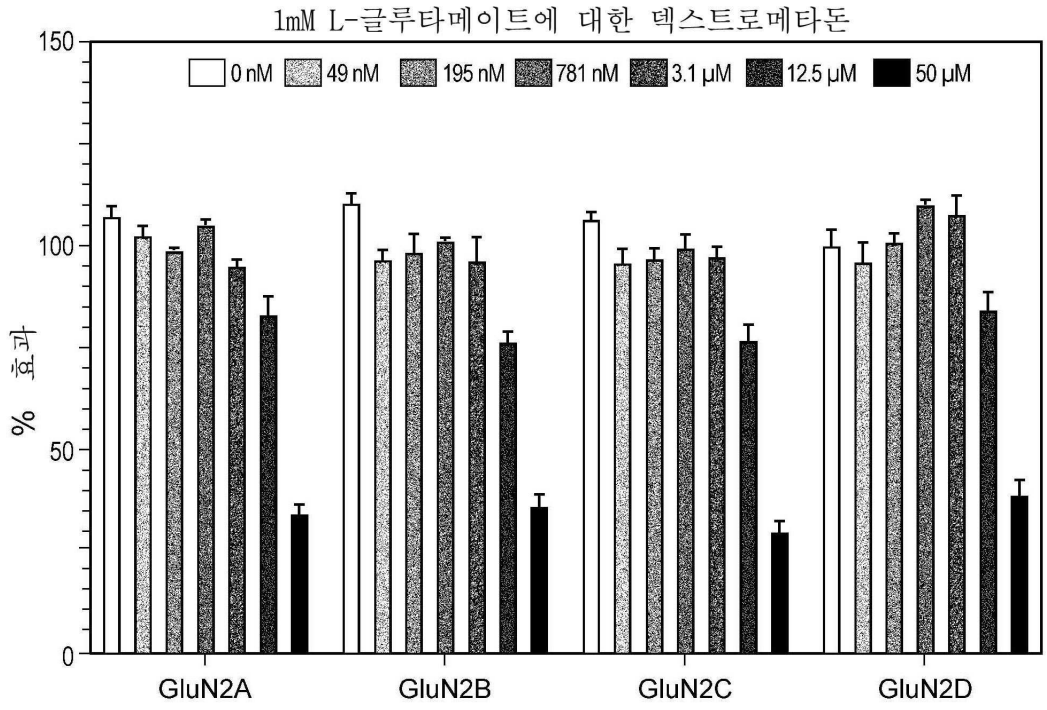
도면8h


10 μM L-글루타메이트에 대한 덱스트로메타돈
0 nM
49 nM
195 nM
781 nM
3.1 μM
12.5 μM
50 μM
% 효과
150
100
50
0
GluN2A
GluN2B
GluN2C
GluN2D

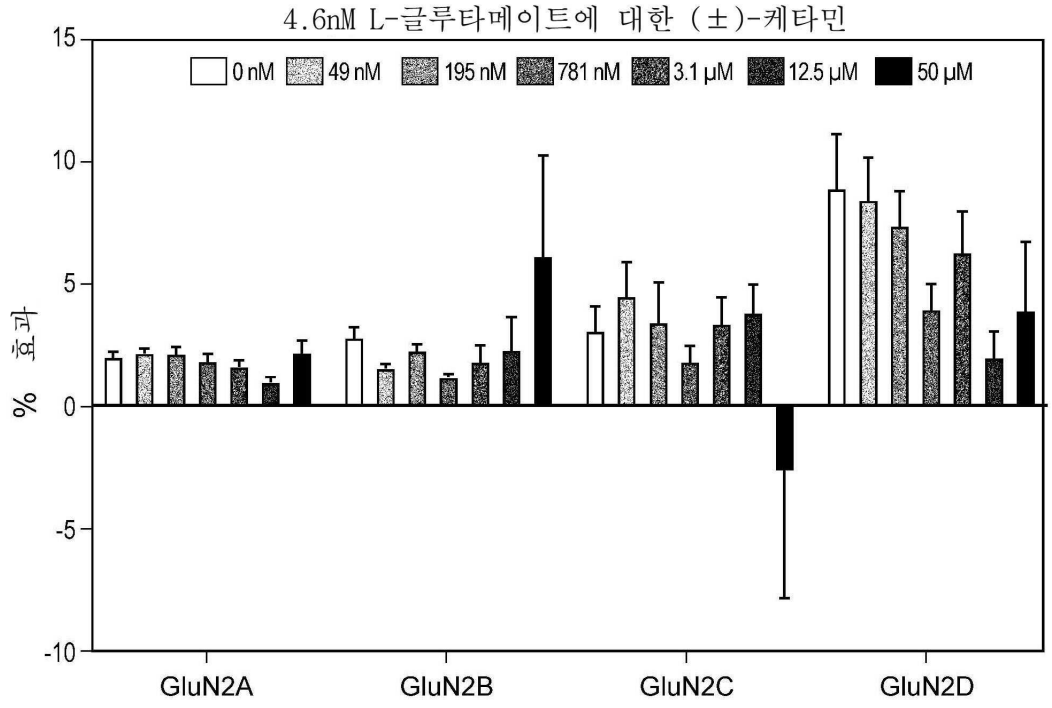
도면8i


100 μM L-글루타메이트에 대한 덱스트로메타돈
0 nM
49 nM
195 nM
781 nM
3.1 μM
12.5 μM
50 μM
% 효과
150
100
50
0
GluN2A
GluN2B
GluN2C
GluN2D

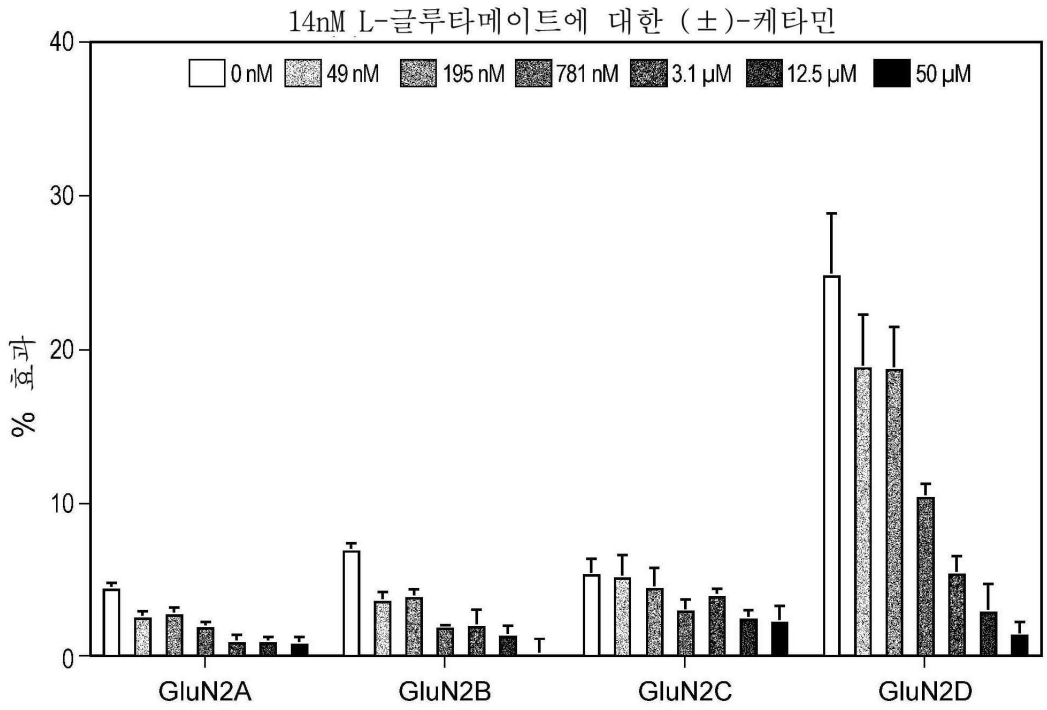
도면8j


1mM L-글루타메이트에 대한 덱스트로메타돈
0 nM
49 nM
195 nM
781 nM
3.1 μM
12.5 μM
50 μM
150
100
50
0
% 효과
GluN2A
GluN2B
GluN2C
GluN2D

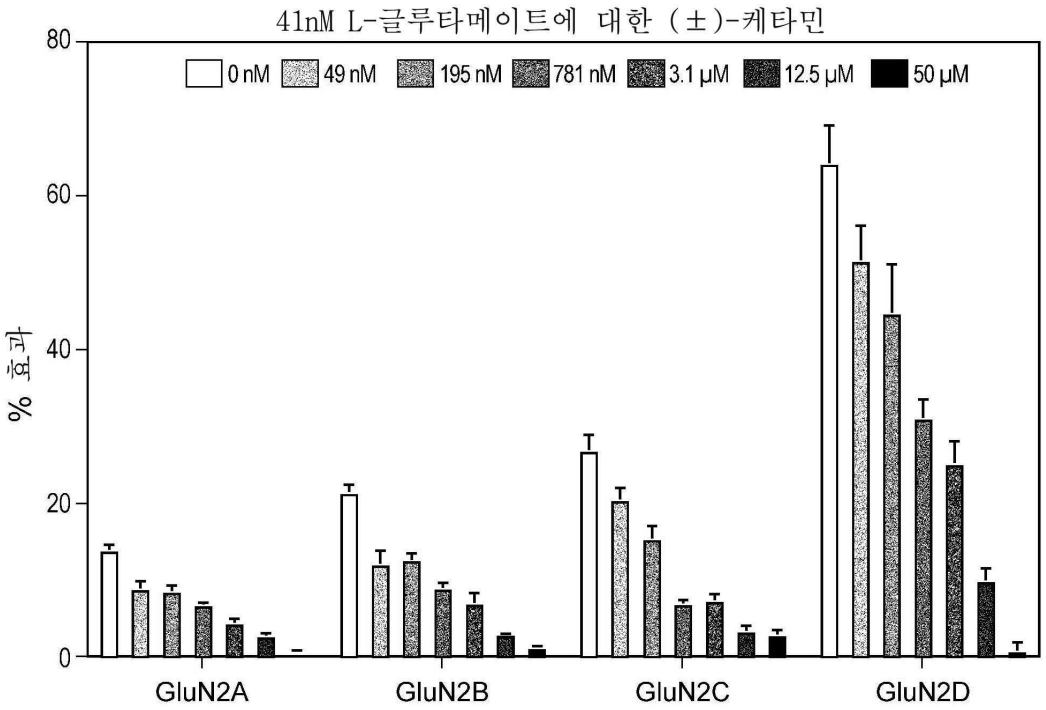
도면9a


4.6nM L-글루타메이트에 대한 (±)-케타민
0 nM
49 nM
195 nM
781 nM
3.1 μM
12.5 μM
50 μM
15
10
5
0
-5
-10
% 효과
GluN2A
GluN2B
GluN2C
GluN2D

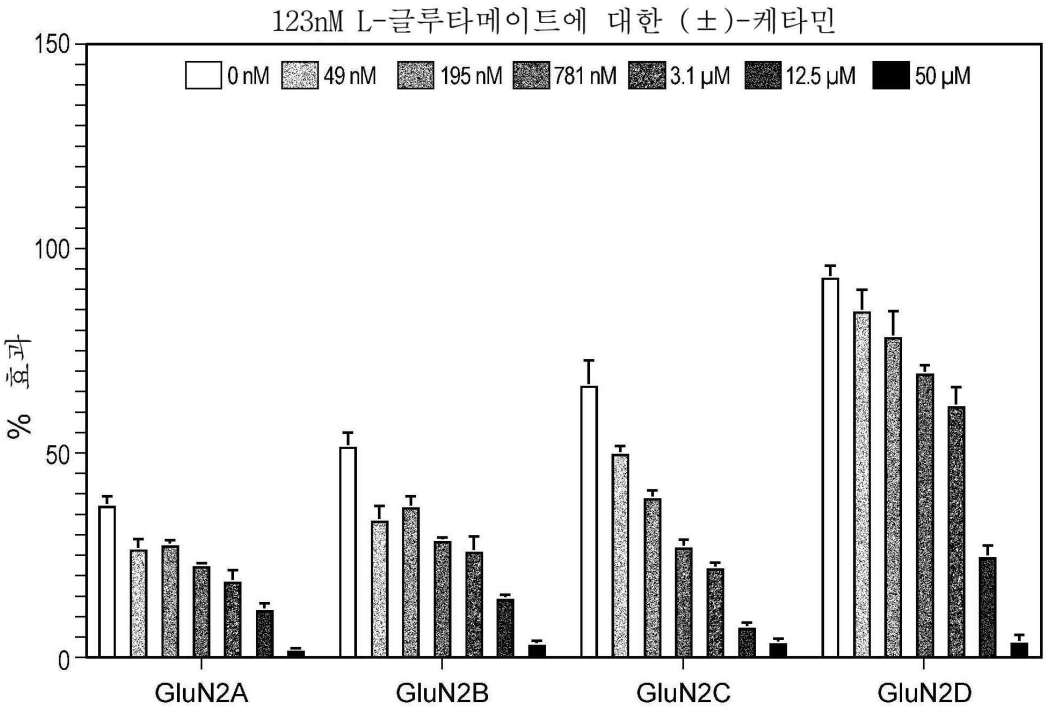
도면9b


14nM L-글루타메이트에 대한 (±)-케타민
0 nM
49 nM
195 nM
781 nM
3.1 μM
12.5 μM
50 μM
% 효과
40
30
20
10
0
GluN2A
GluN2B
GluN2C
GluN2D

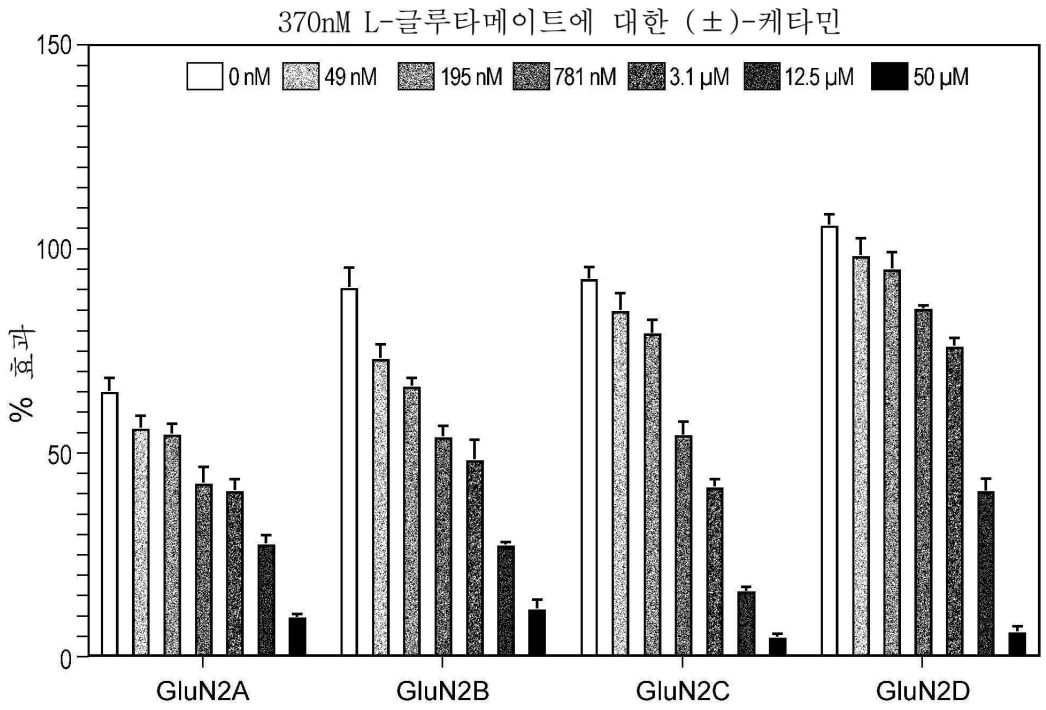
도면9c


41nM L-글루타메이트에 대한 (±)-케타민
0 nM
49 nM
195 nM
781 nM
3.1 μM
12.5 μM
50 μM
% 효과
80
60
40
20
0
GluN2A
GluN2B
GluN2C
GluN2D

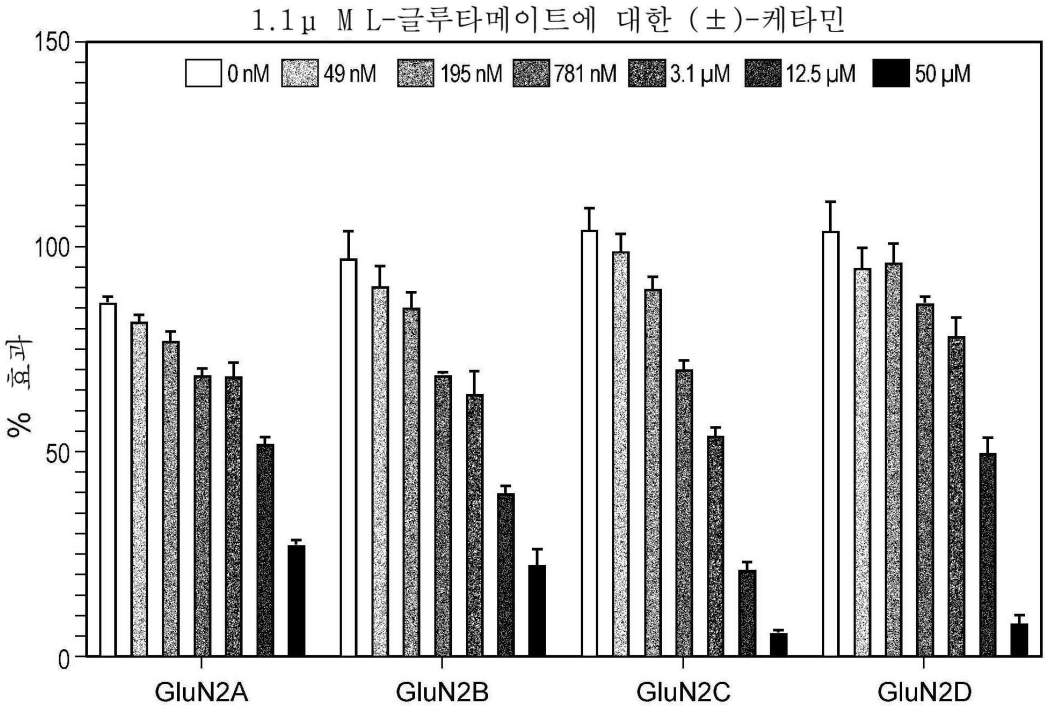
도면9d


123nM L-글루타메이트에 대한 (±)-케타민
0 nM
49 nM
195 nM
781 nM
3.1 μM
12.5 μM
50 μM
% 효과
150
100
50
0
GluN2A
GluN2B
GluN2C
GluN2D

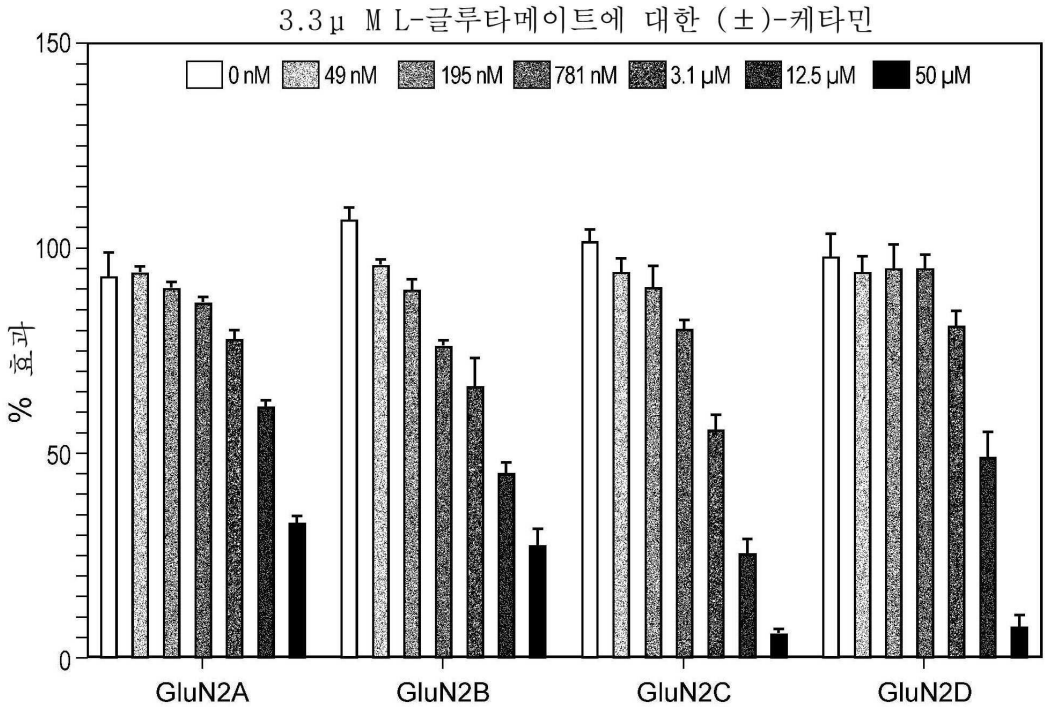
도면9e


370nM L-글루타메이트에 대한 (±)-케타민
0 nM
49 nM
195 nM
781 nM
3.1 μM
12.5 μM
50 μM
% 효과
150
100
50
0
GluN2A
GluN2B
GluN2C
GluN2D

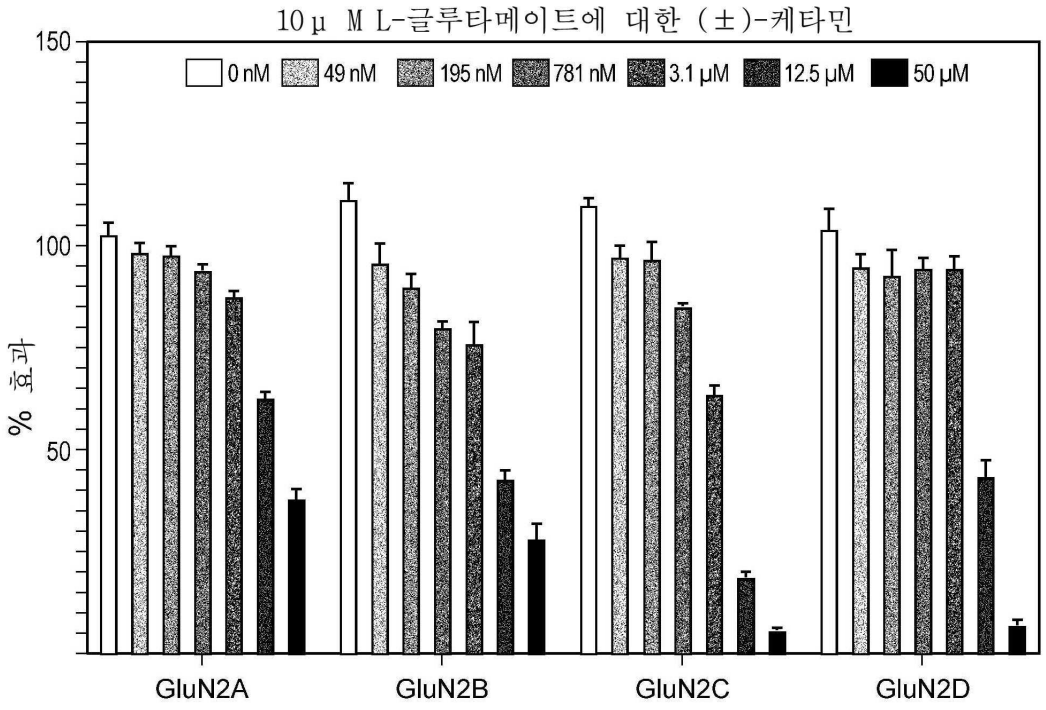
도면9f


1.1μM L-글루타메이트에 대한 (±)-케타민
0 nM
49 nM
195 nM
781 nM
3.1 μM
12.5 μM
50 μM
% 효과
150
100
50
0
GluN2A
GluN2B
GluN2C
GluN2D

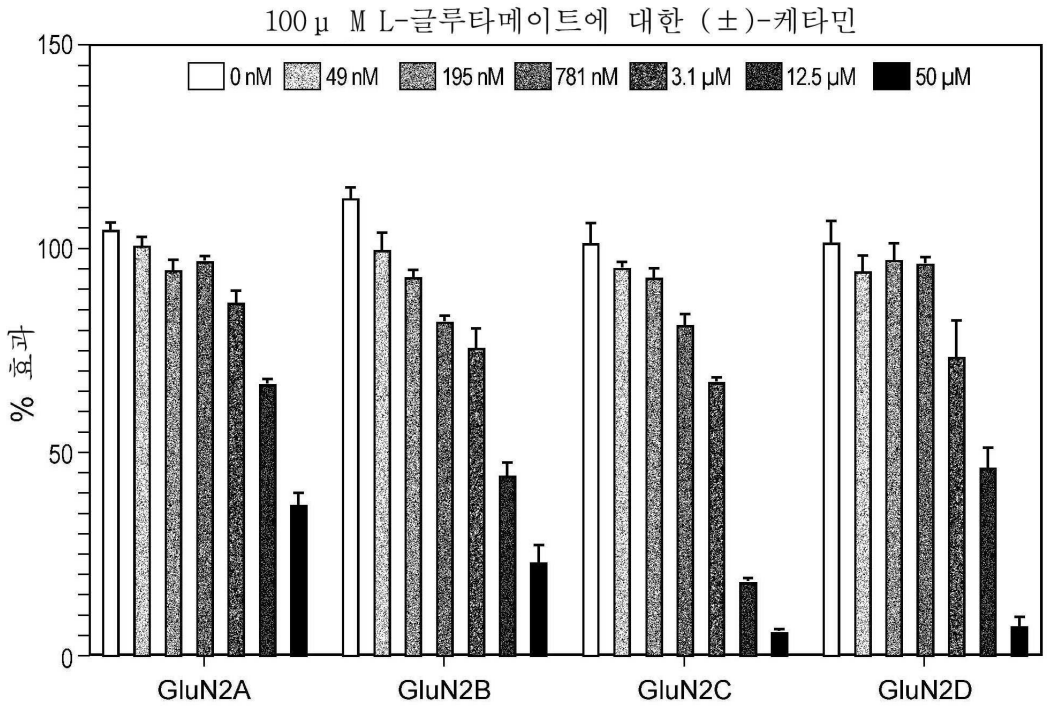
도면9g


3.3μM L-글루타메이트에 대한 (±)-케타민
0 nM
49 nM
195 nM
781 nM
3.1 μM
12.5 μM
50 μM
% 효과
150
100
50
0
GluN2A
GluN2B
GluN2C
GluN2D

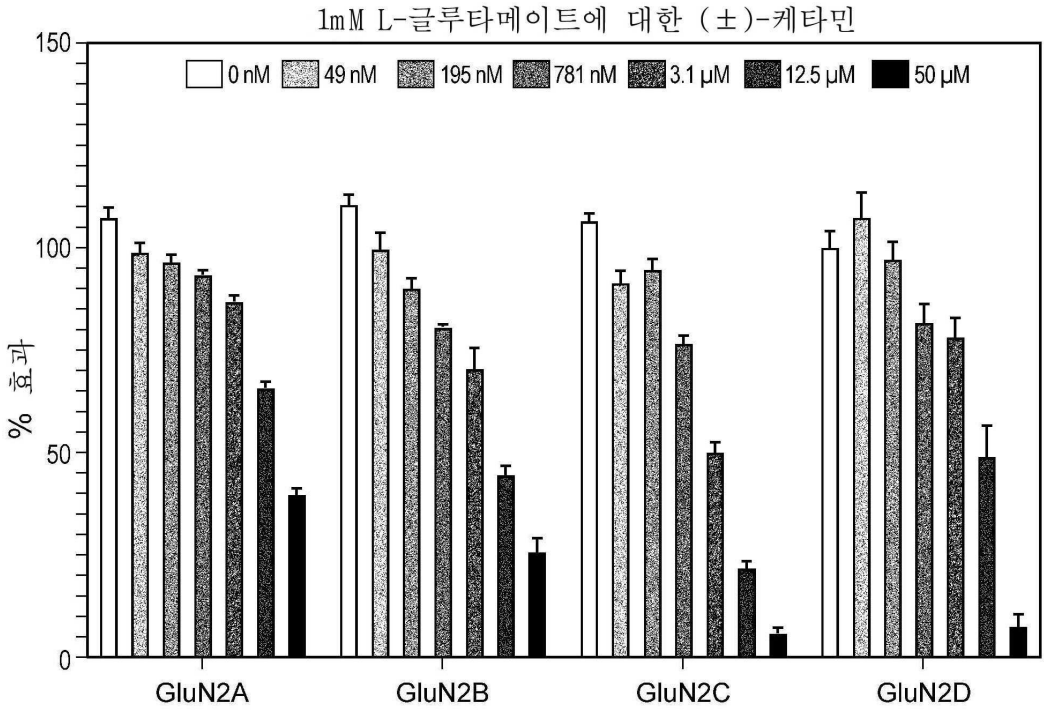
도면9h


10 μ M L-글루타메이트에 대한 (±)-케타민
0 nM
49 nM
195 nM
781 nM
3.1 μM
12.5 μM
50 μM
150
100
50
% 효과
GluN2A
GluN2B
GluN2C
GluN2D

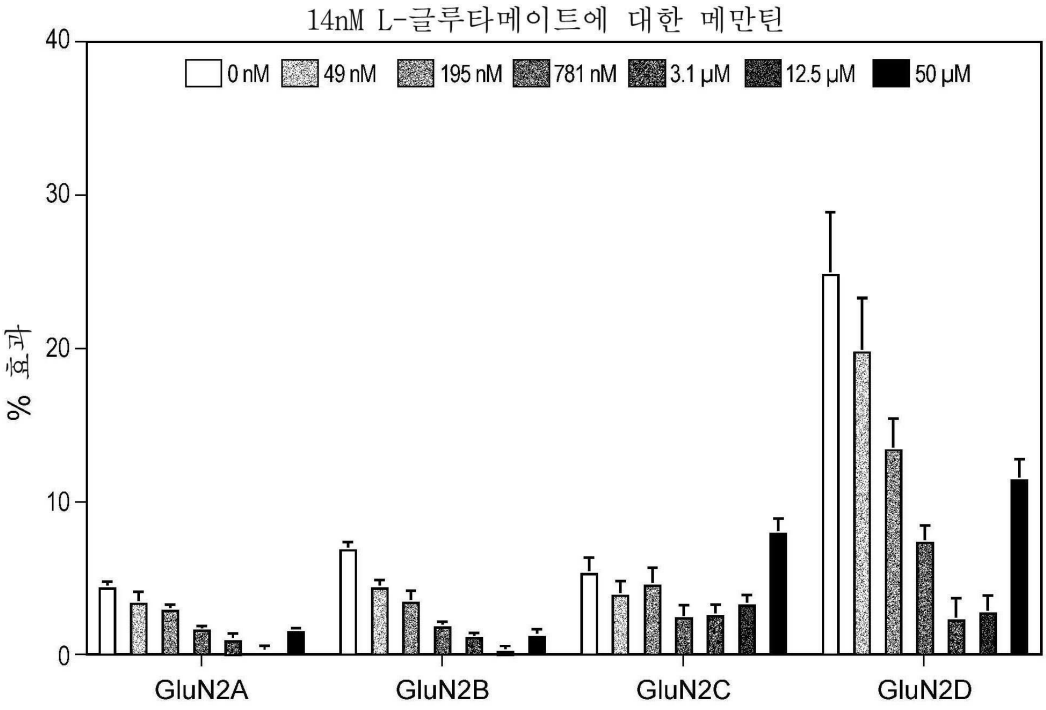
도면9i


100 μ M L-글루타메이트에 대한 (±)-케타민
0 nM
49 nM
195 nM
781 nM
3.1 μM
12.5 μM
50 μM
150
100
50
0
% 효과
GluN2A
GluN2B
GluN2C
GluN2D

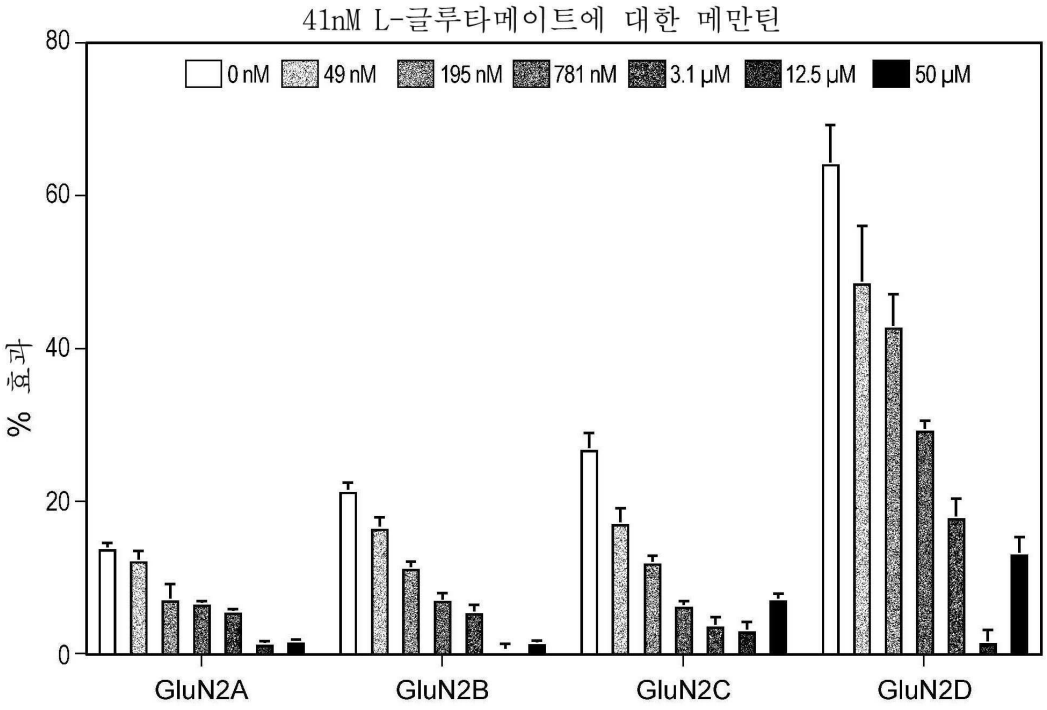
도면9j


1mM L-글루타메이트에 대한 (±)-케타민
0 nM
49 nM
195 nM
781 nM
3.1 μM
12.5 μM
50 μM
% 효과
150
100
50
0
GluN2A
GluN2B
GluN2C
GluN2D

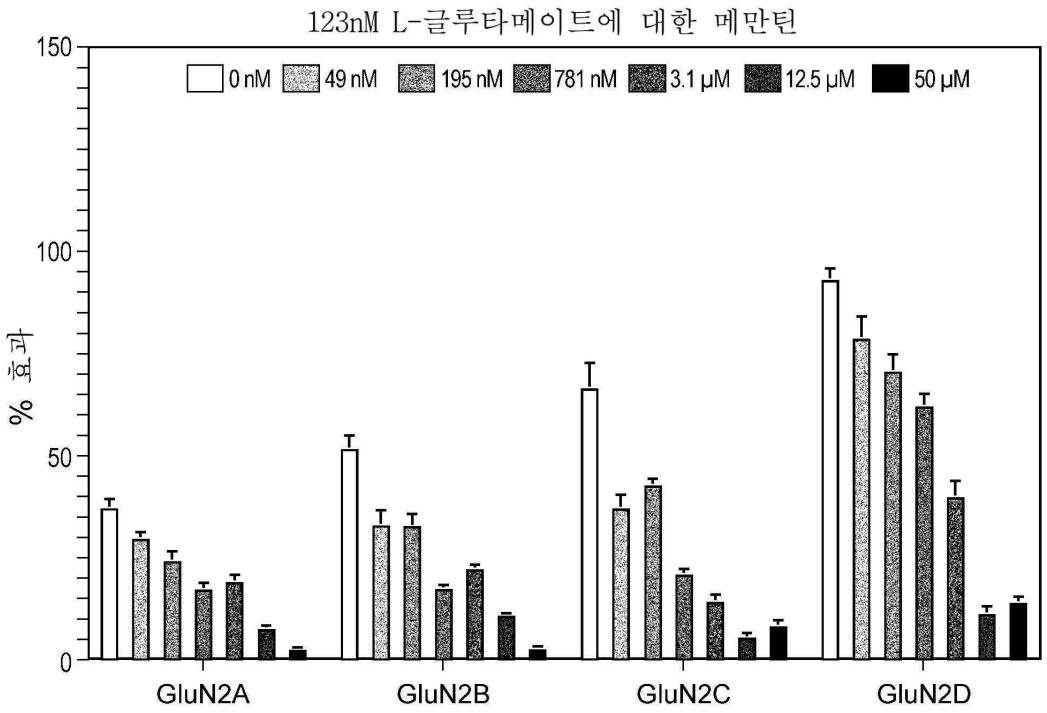
도면10a


14nM L-글루타메이트에 대한 메만틴
0 nM
49 nM
195 nM
781 nM
3.1 μM
12.5 μM
50 μM
% 효과
40
30
20
10
0
GluN2A
GluN2B
GluN2C
GluN2D

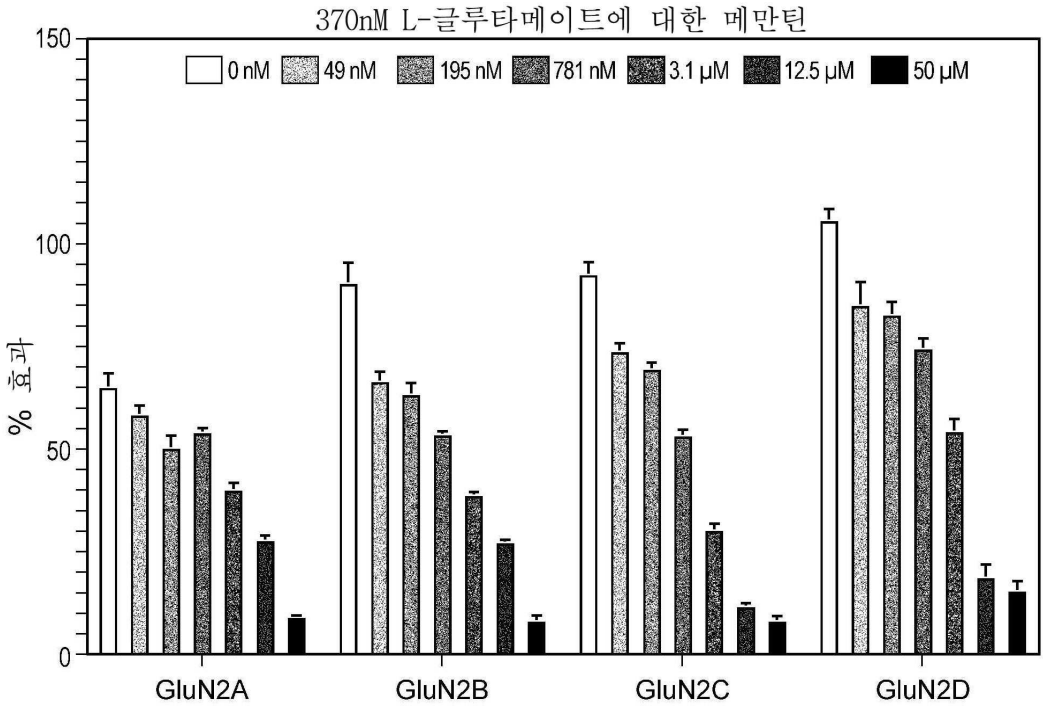
도면10b


41nM L-글루타메이트에 대한 메만틴
0 nM
49 nM
195 nM
781 nM
3.1 μM
12.5 μM
50 μM
% 효과
80
60
40
20
0
GluN2A
GluN2B
GluN2C
GluN2D

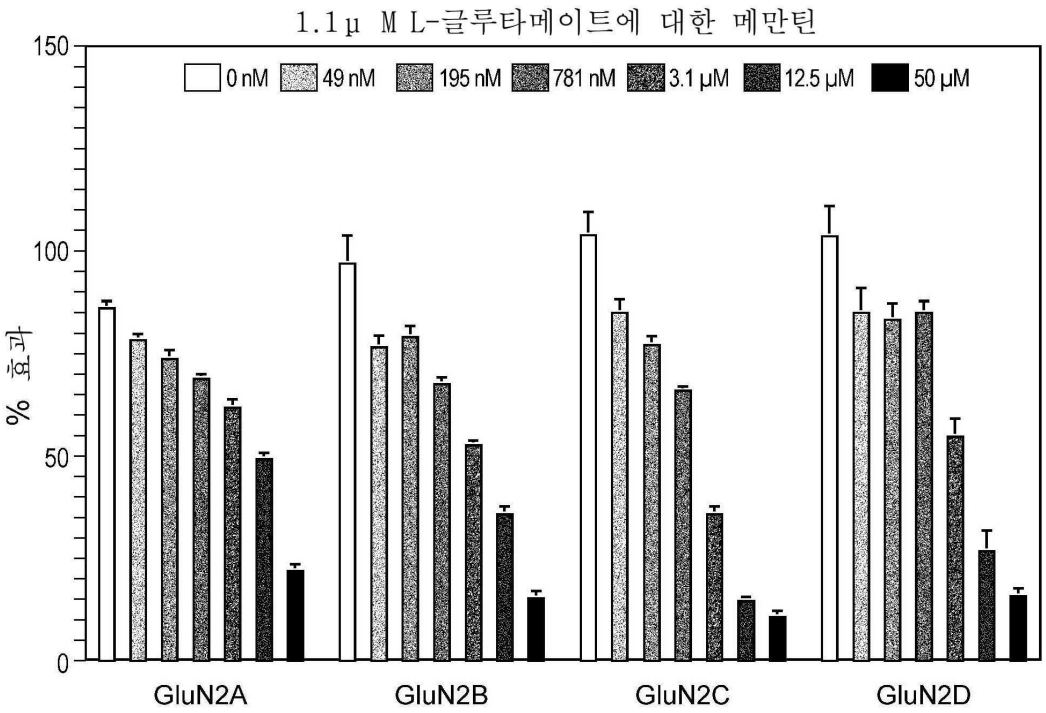
도면10c


123nM L-글루타메이트에 대한 메만틴
0 nM
49 nM
195 nM
781 nM
3.1 μM
12.5 μM
50 μM
% 효과
150
100
50
0
GluN2A
GluN2B
GluN2C
GluN2D

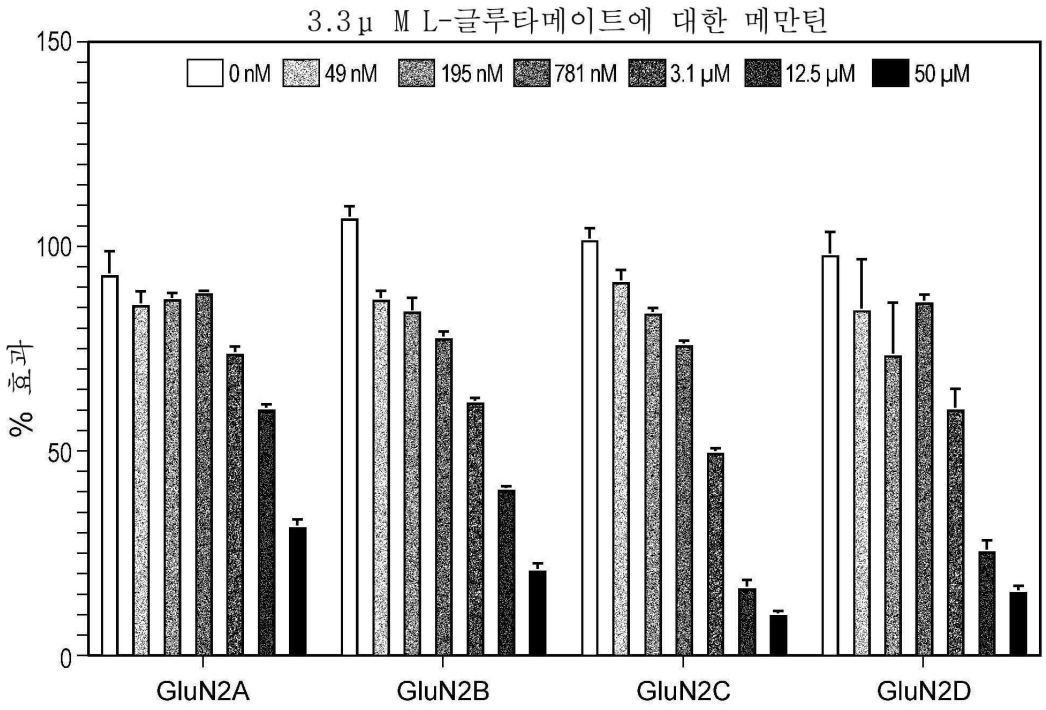
도면10d


370nM L-글루타메이트에 대한 메만틴
0 nM
49 nM
195 nM
781 nM
3.1 μM
12.5 μM
50 μM
% 효과
150
100
50
0
GluN2A
GluN2B
GluN2C
GluN2D

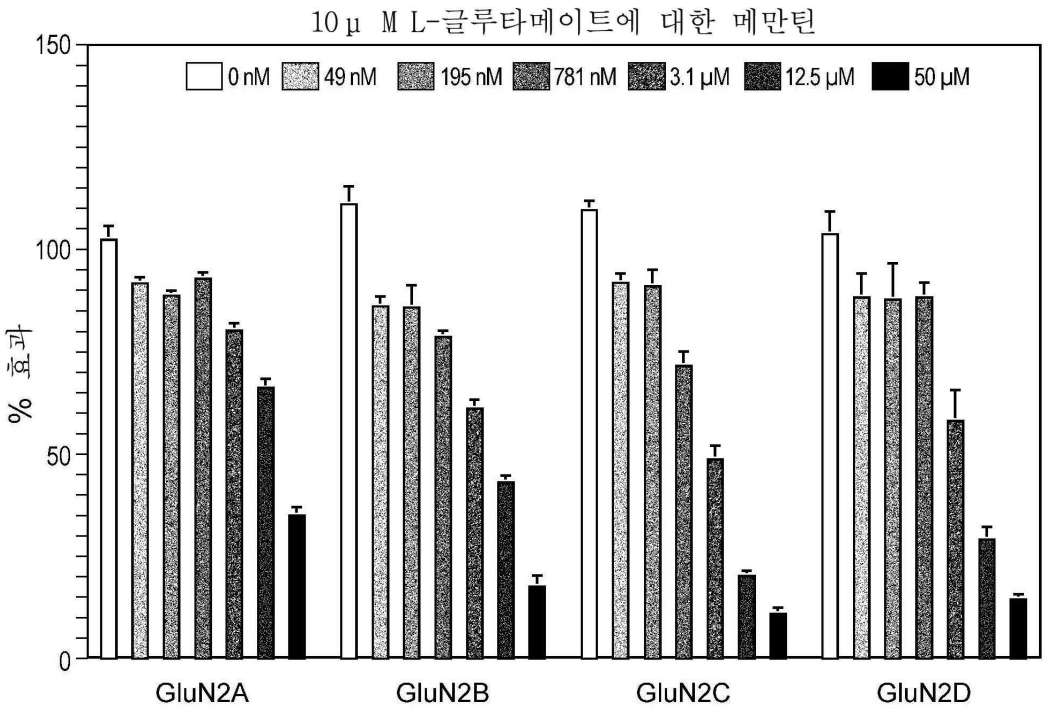
도면10e


1.1μ M L-글루타메이트에 대한 메만틴
0 nM
49 nM
195 nM
781 nM
3.1 μM
12.5 μM
50 μM
% 효과
150
100
50
0
GluN2A
GluN2B
GluN2C
GluN2D

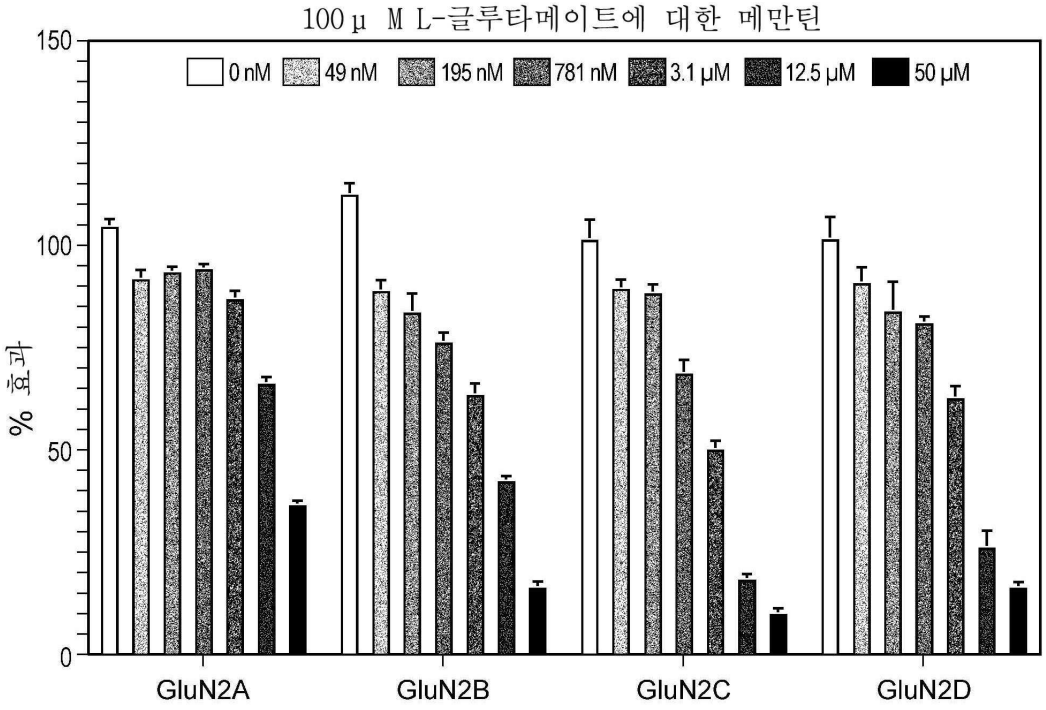
도면10f


3.3μM L-글루타메이트에 대한 메만틴
0 nM
49 nM
195 nM
781 nM
3.1 μM
12.5 μM
50 μM
150
100
50
0
% 효과
GluN2A
GluN2B
GluN2C
GluN2D

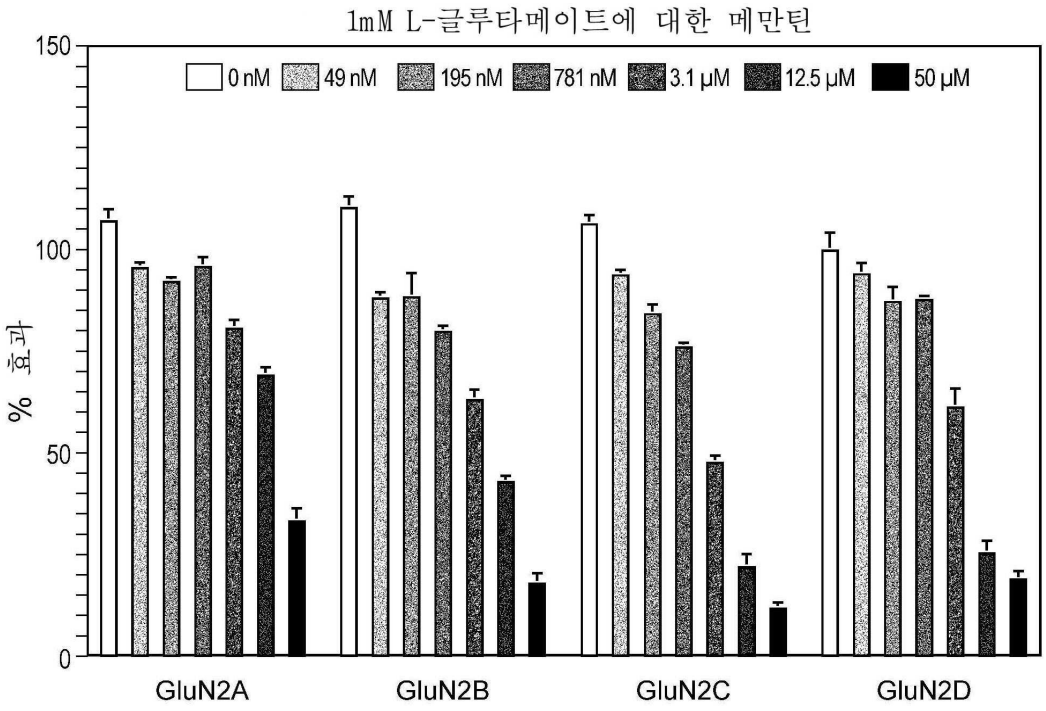
도면10g


10μM L-글루타메이트에 대한 메만틴
0 nM
49 nM
195 nM
781 nM
3.1 μM
12.5 μM
50 μM
150
100
50
0
% 효과
GluN2A
GluN2B
GluN2C
GluN2D

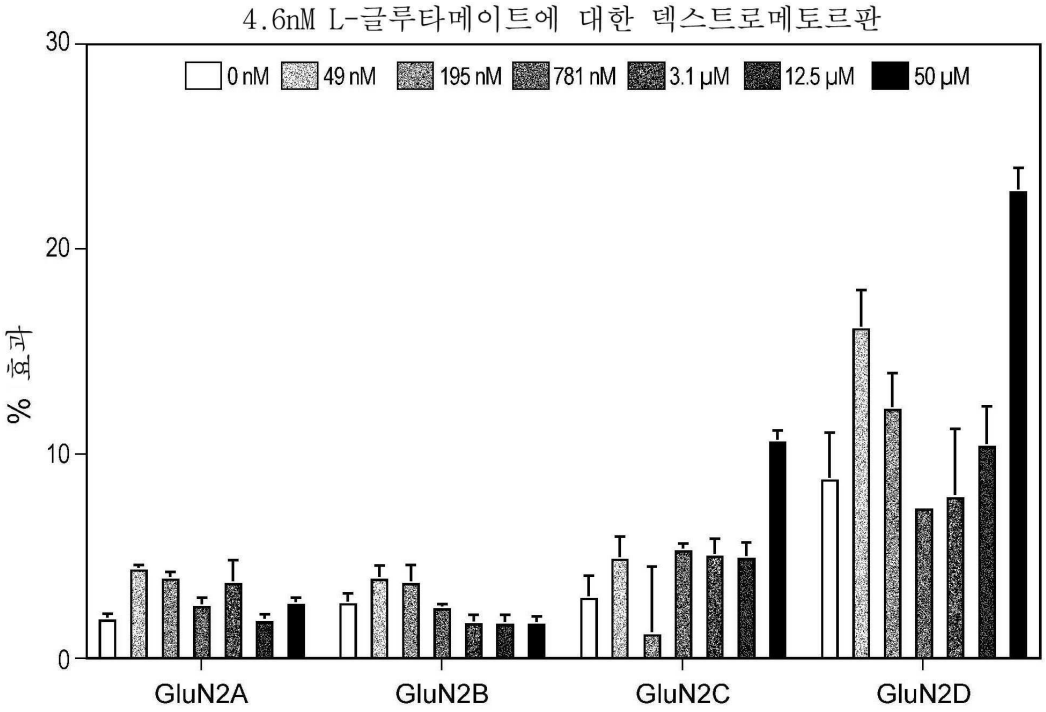
도면10h


100 μ M L-글루타메이트에 대한 메만틴
0 nM
49 nM
195 nM
781 nM
3.1 μM
12.5 μM
50 μM
150
100
50
0
% 효과
GluN2A
GluN2B
GluN2C
GluN2D

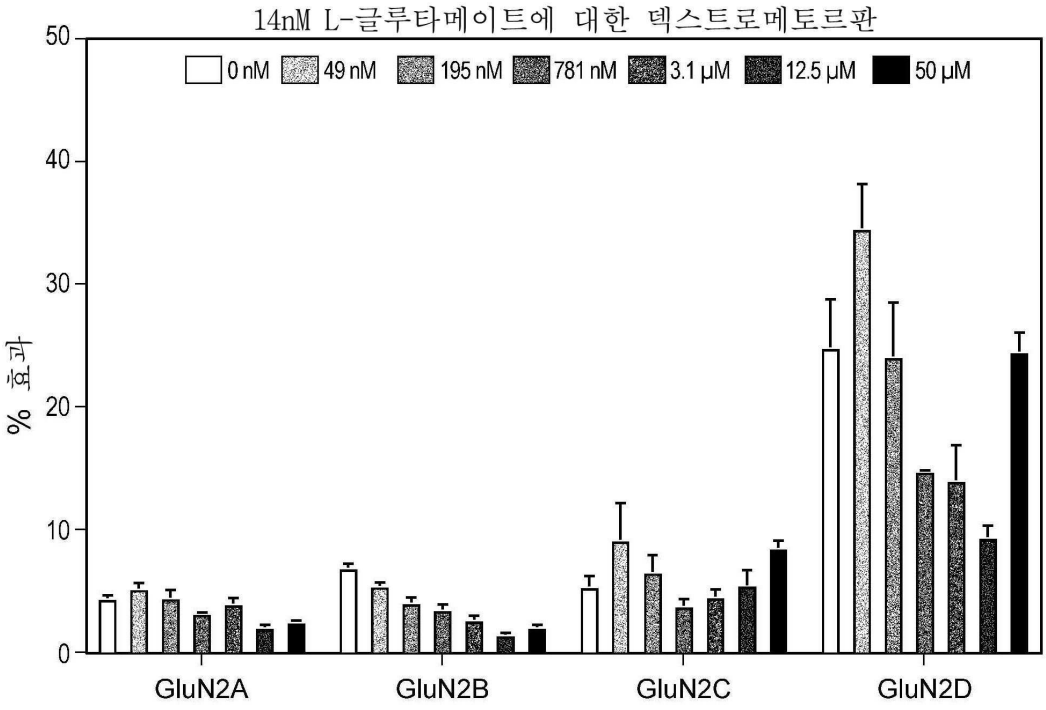
도면10i


1mM L-글루타메이트에 대한 메만틴
0 nM
49 nM
195 nM
781 nM
3.1 μM
12.5 μM
50 μM
150
100
50
0
% 효과
GluN2A
GluN2B
GluN2C
GluN2D

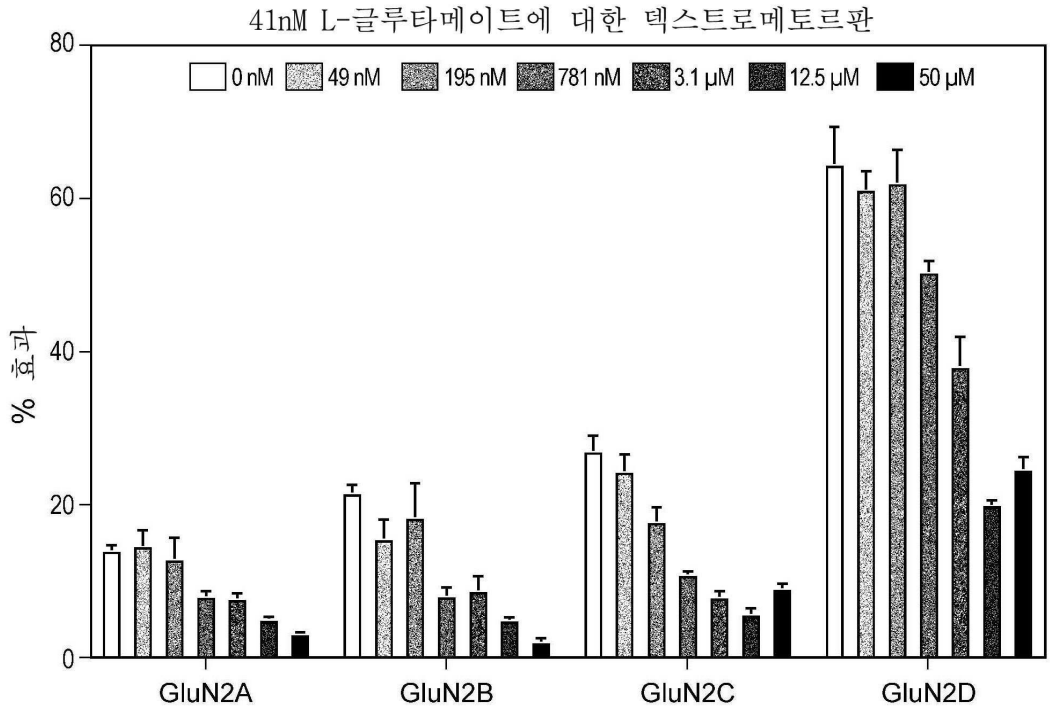
도면11a


4.6nM L-글루타메이트에 대한 덱스트로메토르판
0 nM
49 nM
195 nM
781 nM
3.1 μM
12.5 μM
50 μM
% 효과
30
20
10
0
GluN2A
GluN2B
GluN2C
GluN2D

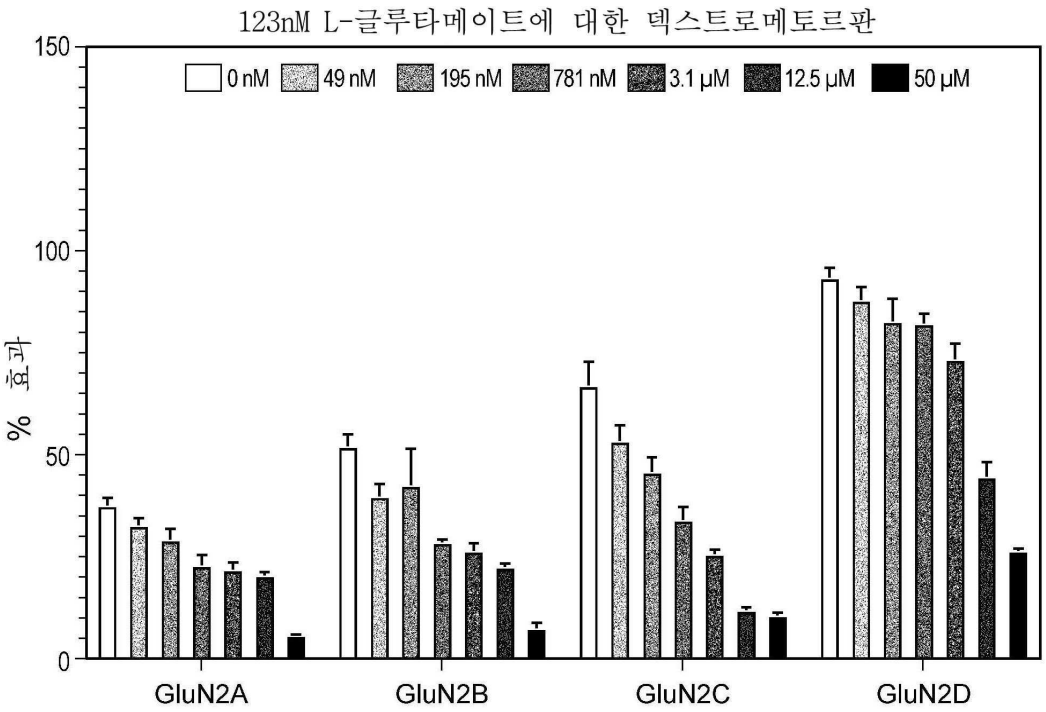
도면11b


14nM L-글루타메이트에 대한 덱스트로메토르판
0 nM
49 nM
195 nM
781 nM
3.1 μM
12.5 μM
50 μM
% 효과
50
40
30
20
10
0
GluN2A
GluN2B
GluN2C
GluN2D

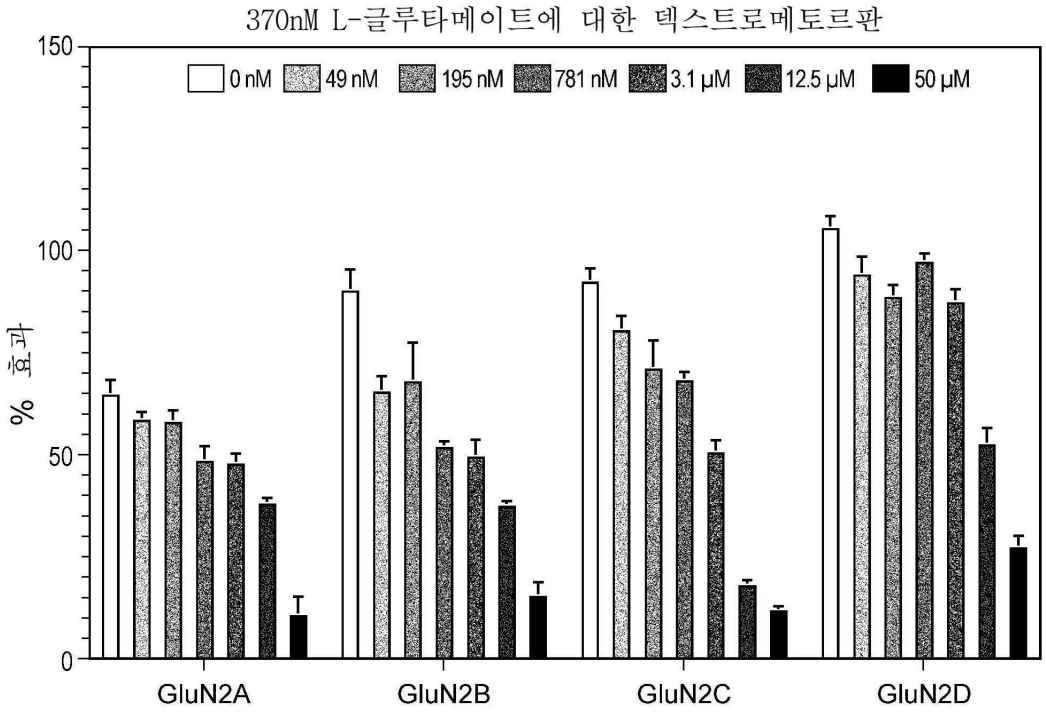
도면11c


41nM L-글루타메이트에 대한 덱스트로메토르판
0 nM
49 nM
195 nM
781 nM
3.1 μM
12.5 μM
50 μM
% 효과
80
60
40
20
0
GluN2A
GluN2B
GluN2C
GluN2D

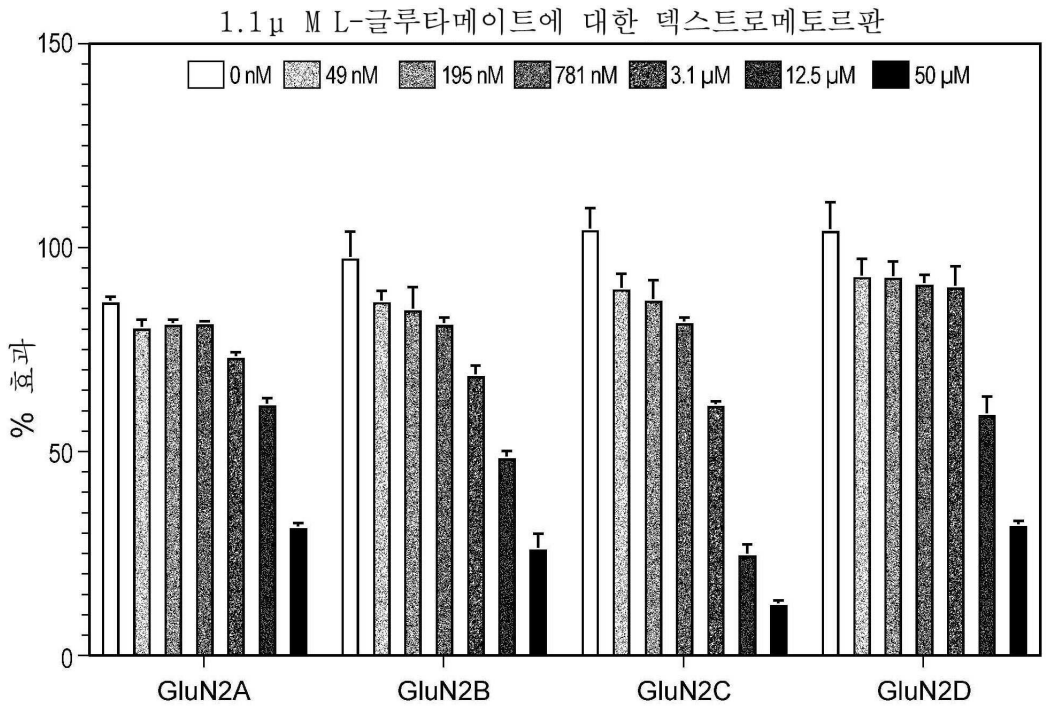
도면11d


123nM L-글루타메이트에 대한 덱스트로메토르판
0 nM
49 nM
195 nM
781 nM
3.1 μM
12.5 μM
50 μM
% 효과
150
100
50
0
GluN2A
GluN2B
GluN2C
GluN2D

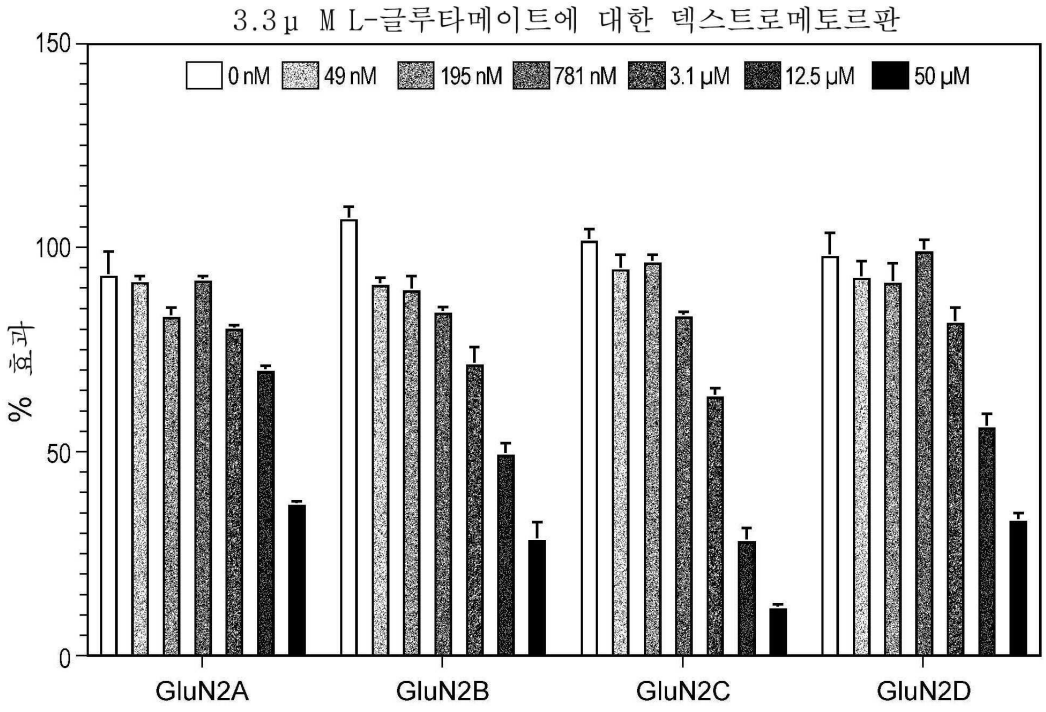
도면11e


370nM L-글루타메이트에 대한 덱스트로메토르판
0 nM
49 nM
195 nM
781 nM
3.1 μM
12.5 μM
50 μM
% 효과
150
100
50
0
GluN2A
GluN2B
GluN2C
GluN2D

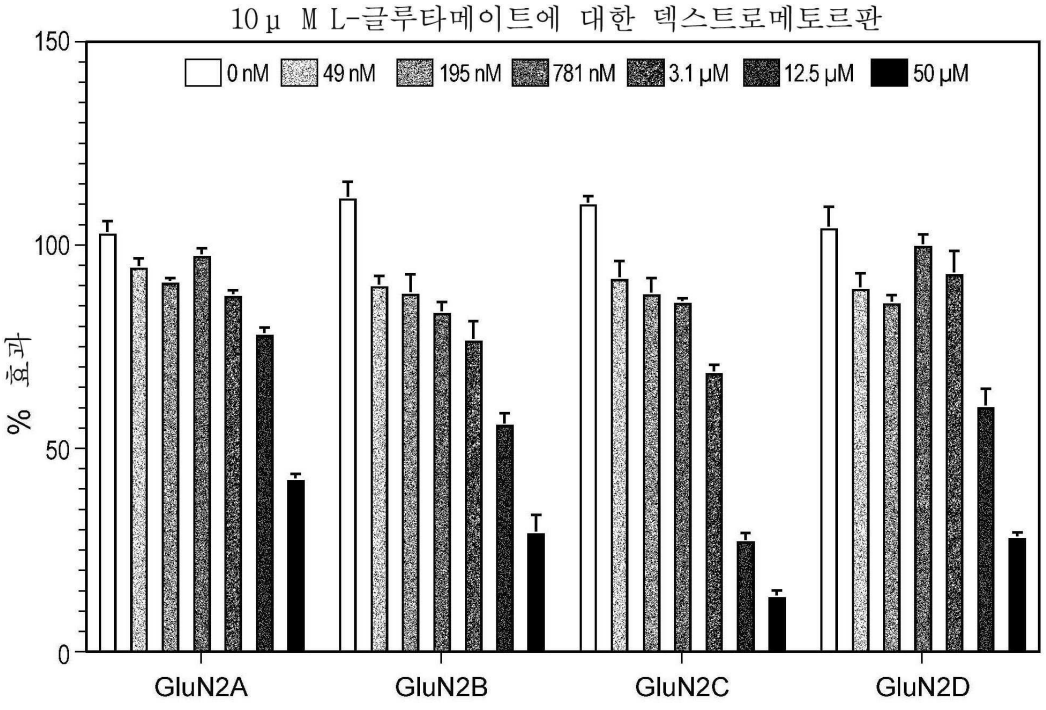
도면11f


1.1μ M L-글루타메이트에 대한 덱스트로메토르판
0 nM
49 nM
195 nM
781 nM
3.1 μM
12.5 μM
50 μM
% 효과
150
100
50
0
GluN2A
GluN2B
GluN2C
GluN2D

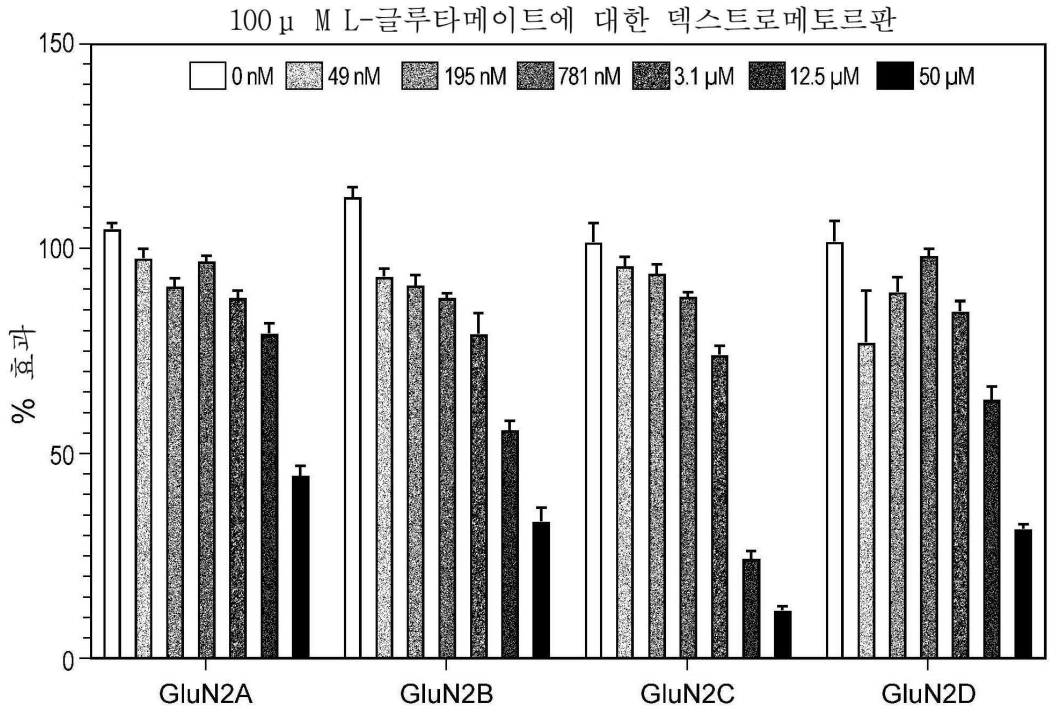
도면11g


3.3μM L-글루타메이트에 대한 덱스트로메토르판
0 nM
49 nM
195 nM
781 nM
3.1 μM
12.5 μM
50 μM
% 효과
150
100
50
0
GluN2A
GluN2B
GluN2C
GluN2D

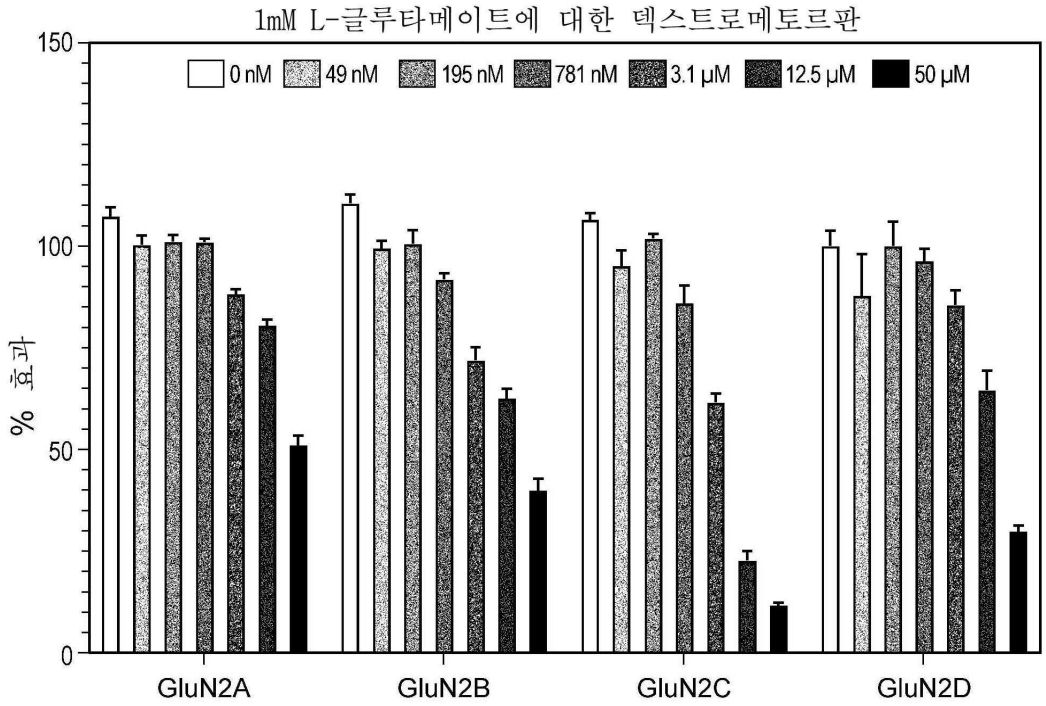
도면11h


10μM L-글루타메이트에 대한 덱스트로메토르판
0 nM
49 nM
195 nM
781 nM
3.1 μM
12.5 μM
50 μM
% 효과
150
100
50
0
GluN2A
GluN2B
GluN2C
GluN2D

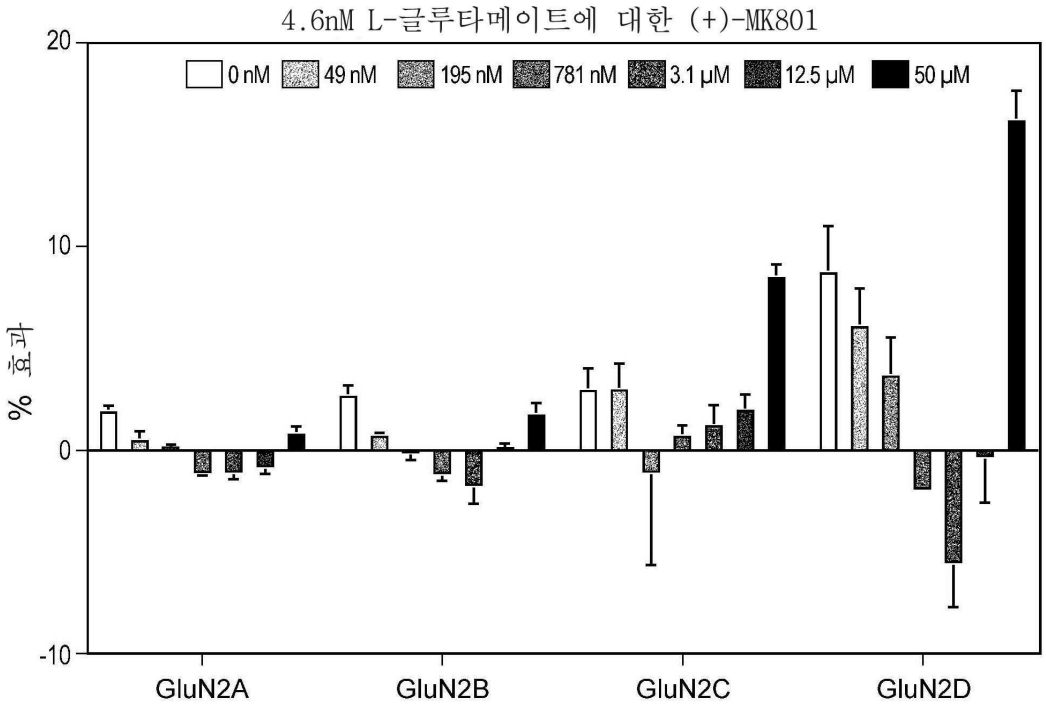
도면11i


100 μ M L-글루타메이트에 대한 덱스트로메토르판
0 nM
49 nM
195 nM
781 nM
3.1 μM
12.5 μM
50 μM
% 효과
150
100
50
0
GluN2A
GluN2B
GluN2C
GluN2D

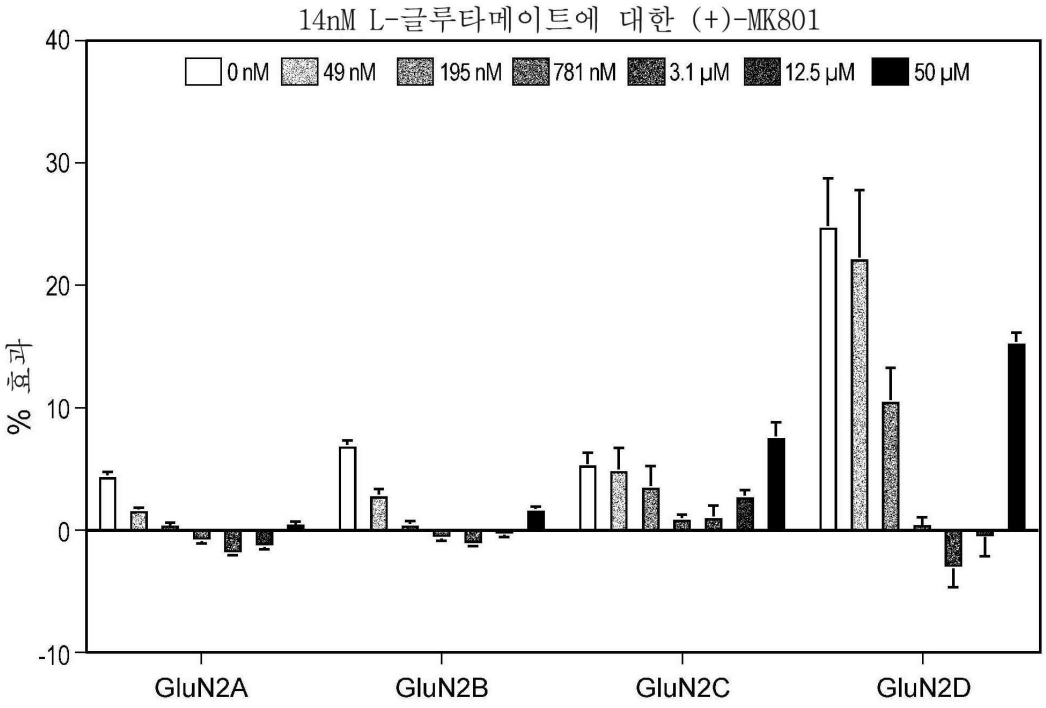
도면11j


1mM L-글루타메이트에 대한 덱스트로메토르판
0 nM
49 nM
195 nM
781 nM
3.1 μM
12.5 μM
50 μM
% 효과
150
100
50
0
GluN2A
GluN2B
GluN2C
GluN2D

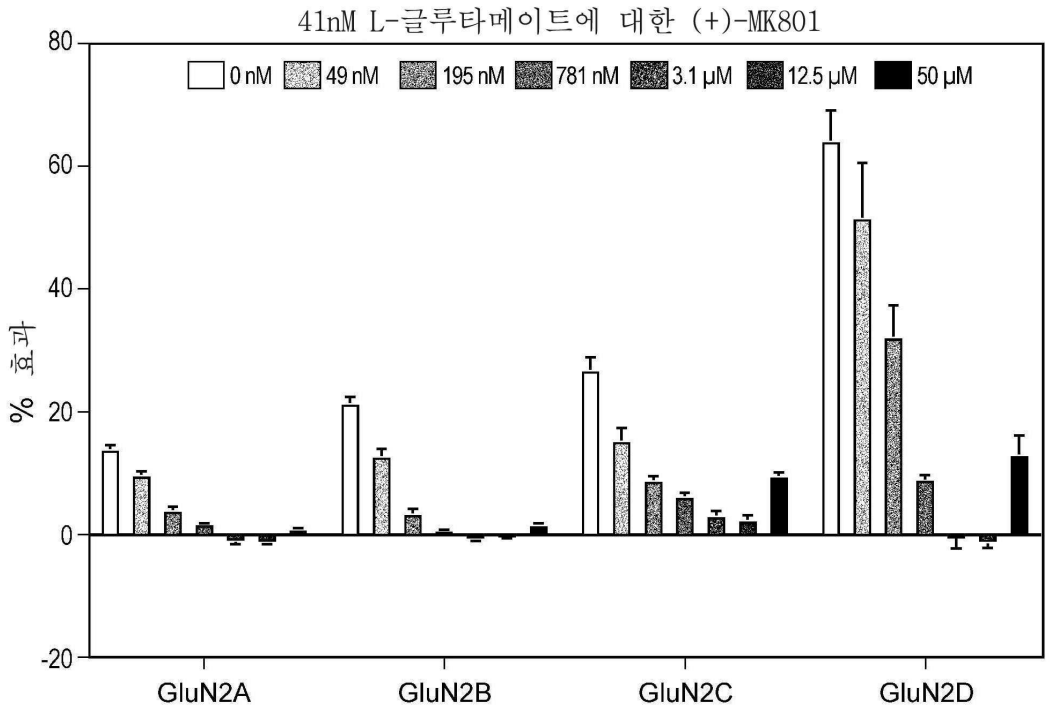
도면12a


4.6nM L-글루타메이트에 대한 (+)-MK801
0 nM
49 nM
195 nM
781 nM
3.1 μM
12.5 μM
50 μM
% 효과
20
10
0
-10
GluN2A
GluN2B
GluN2C
GluN2D

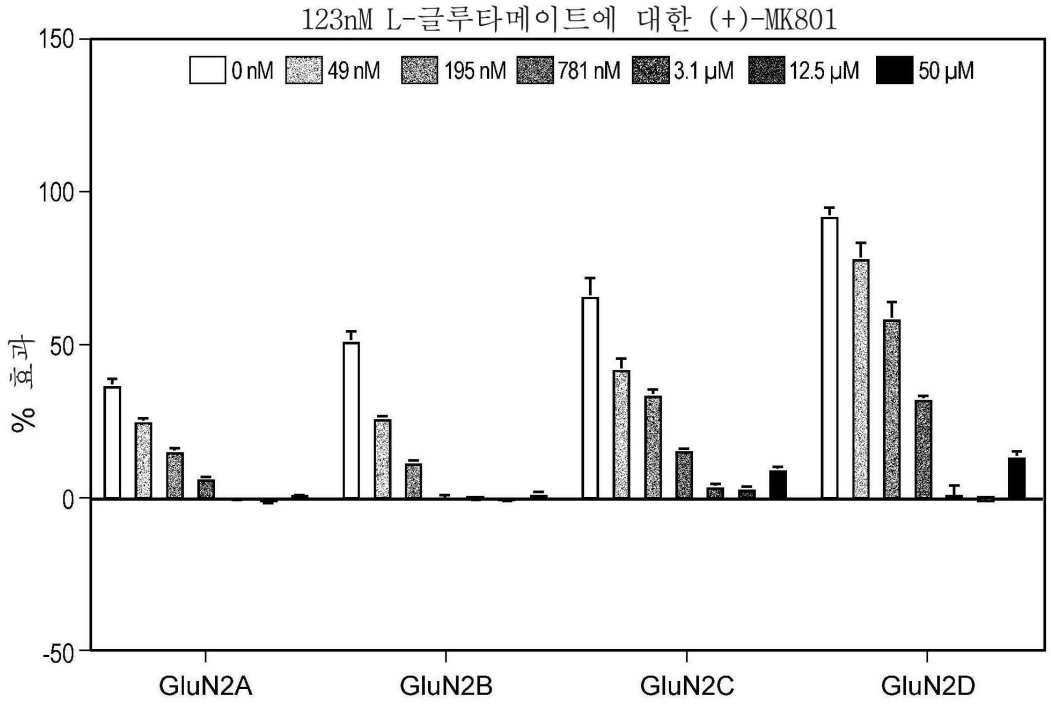
도면12b


14nM L-글루타메이트에 대한 (+)-MK801
0 nM
49 nM
195 nM
781 nM
3.1 μM
12.5 μM
50 μM
% 효과
40
30
20
10
0
-10
GluN2A
GluN2B
GluN2C
GluN2D

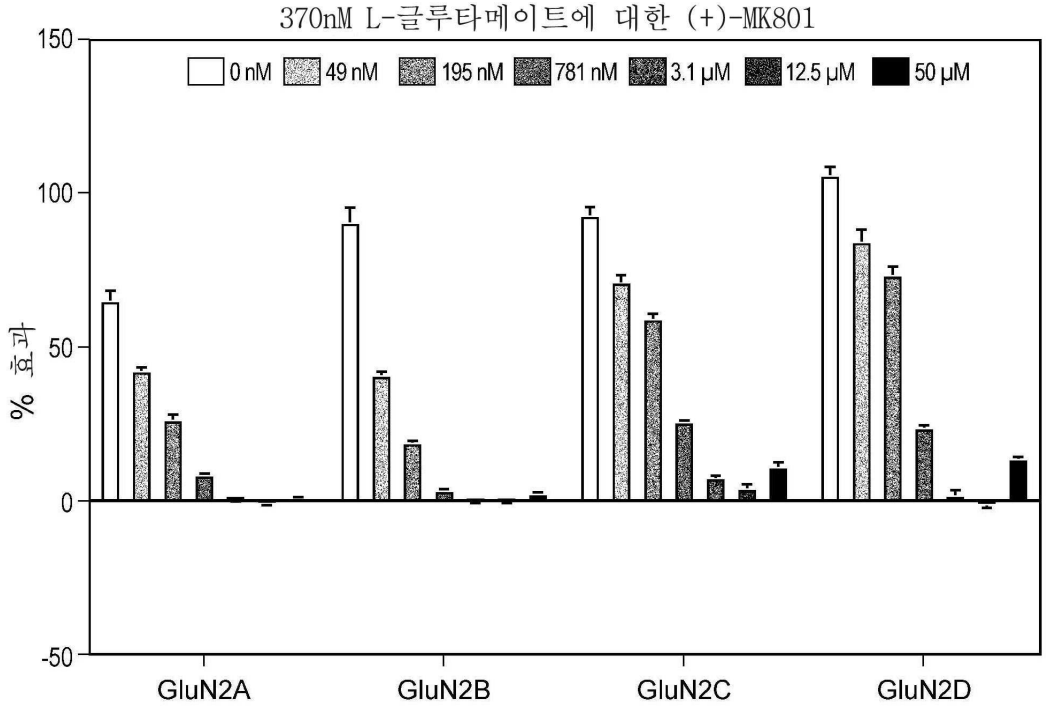
도면12c


41nM L-글루타메이트에 대한 (+)-MK801
0 nM
49 nM
195 nM
781 nM
3.1 μM
12.5 μM
50 μM
% 효과
80
60
40
20
0
-20
GluN2A
GluN2B
GluN2C
GluN2D

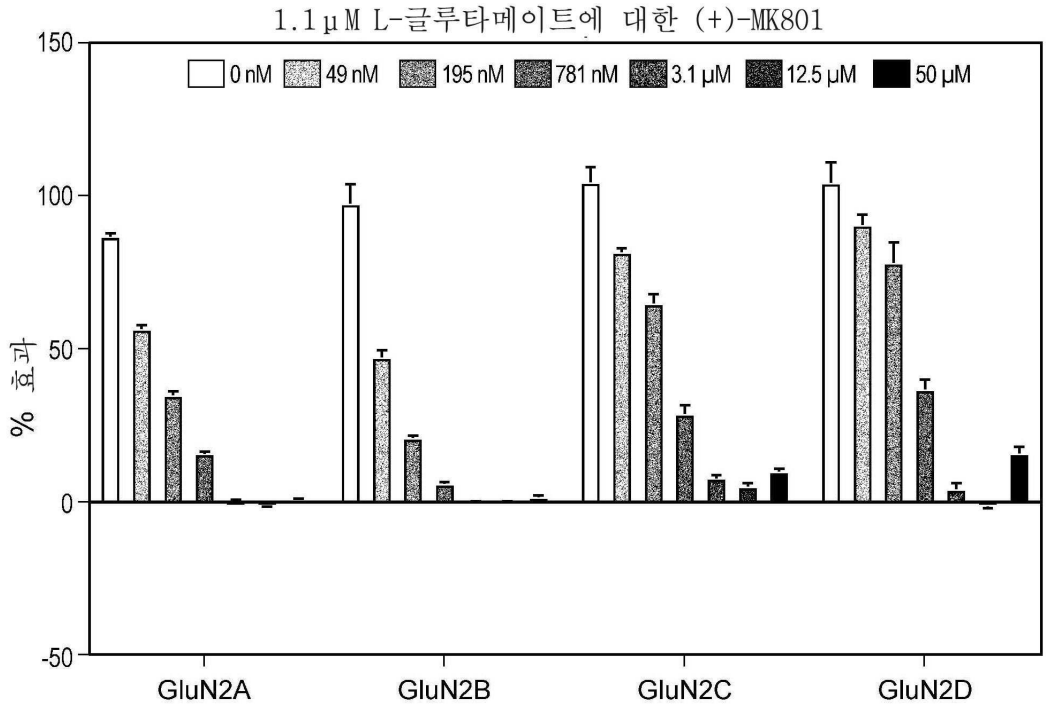
도면12d


123nM L-글루타메이트에 대한 (+)-MK801
0 nM
49 nM
195 nM
781 nM
3.1 μM
12.5 μM
50 μM
% 효과
150
100
50
0
-50
GluN2A
GluN2B
GluN2C
GluN2D

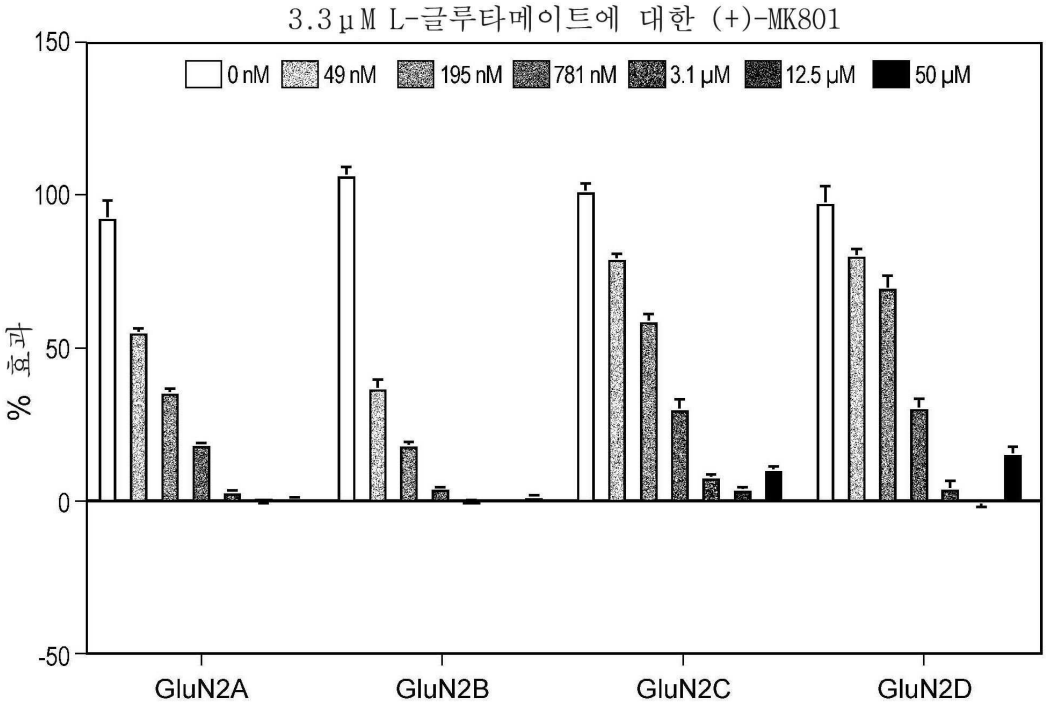
도면12e


370nM L-글루타메이트에 대한 (+)-MK801
0 nM
49 nM
195 nM
781 nM
3.1 μM
12.5 μM
50 μM
150
100
50
0
-50
% 효과
GluN2A
GluN2B
GluN2C
GluN2D

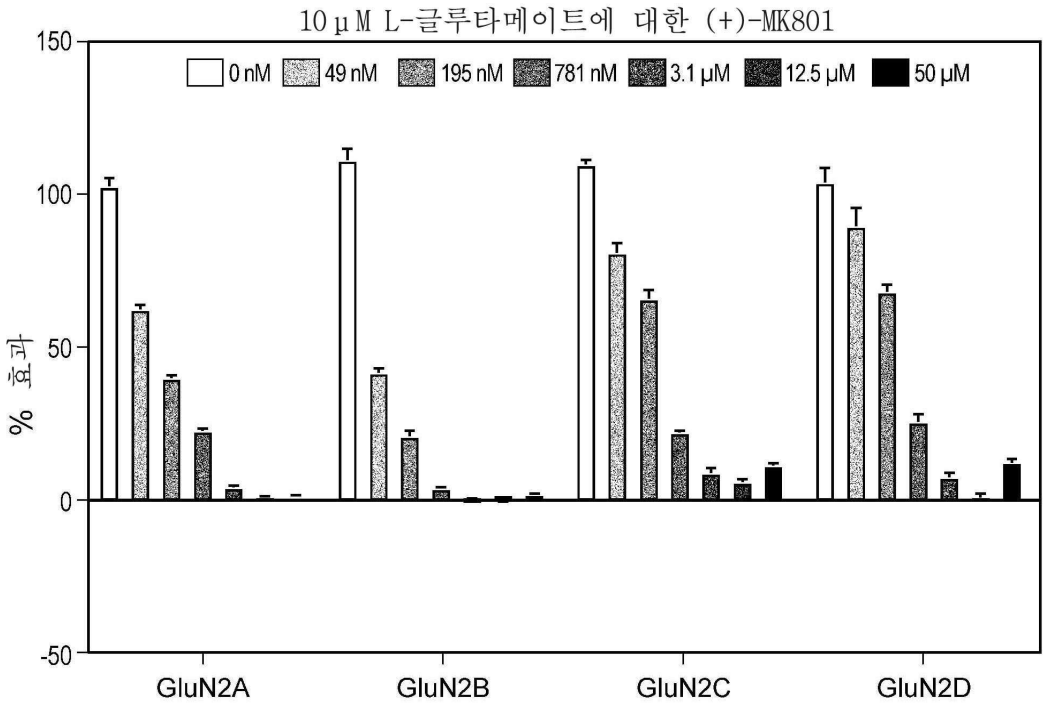
도면12f


1.1 μM L-글루타메이트에 대한 (+)-MK801
0 nM
49 nM
195 nM
781 nM
3.1 μM
12.5 μM
50 μM
150
100
50
0
-50
% 효과
GluN2A
GluN2B
GluN2C
GluN2D

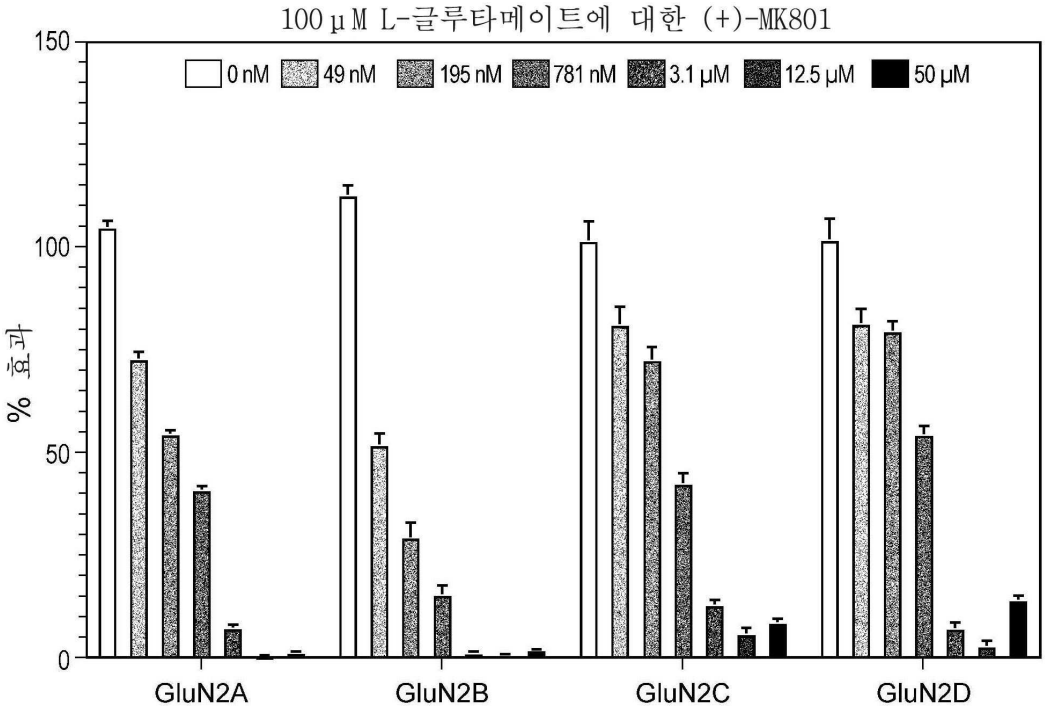
도면12g


3.3 μM L-글루타메이트에 대한 (+)-MK801
0 nM
49 nM
195 nM
781 nM
3.1 μM
12.5 μM
50 μM
150
100
50
0
-50
% 효과
GluN2A
GluN2B
GluN2C
GluN2D

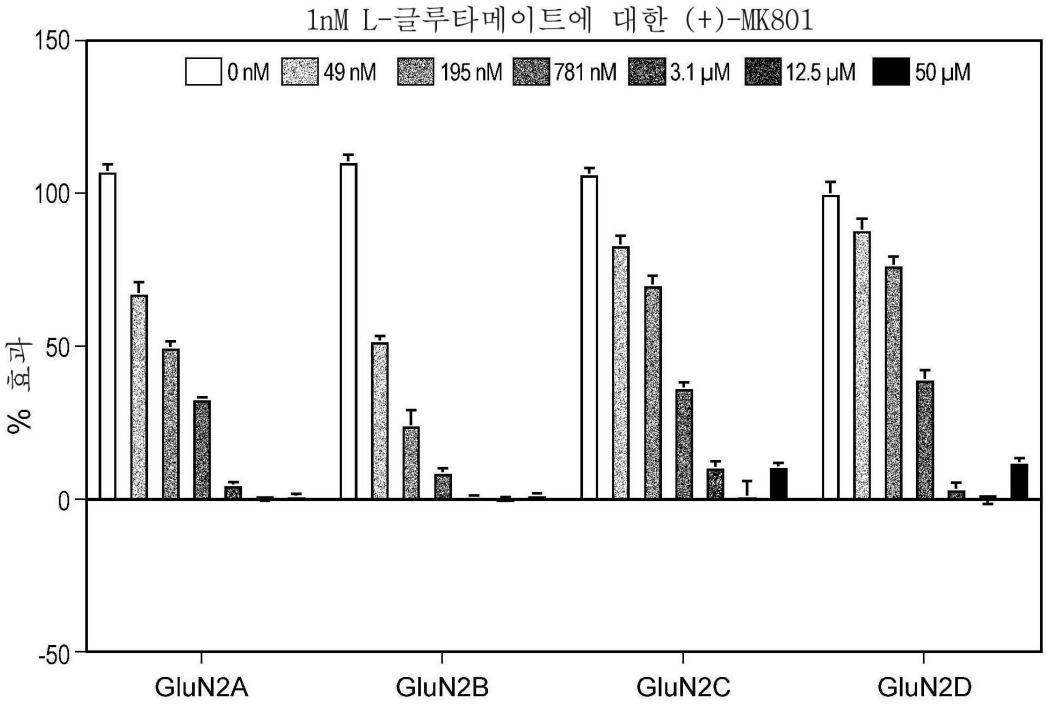
도면12h


10 μM L-글루타메이트에 대한 (+)-MK801
0 nM
49 nM
195 nM
781 nM
3.1 μM
12.5 μM
50 μM
150
100
50
0
-50
% 효과
GluN2A
GluN2B
GluN2C
GluN2D

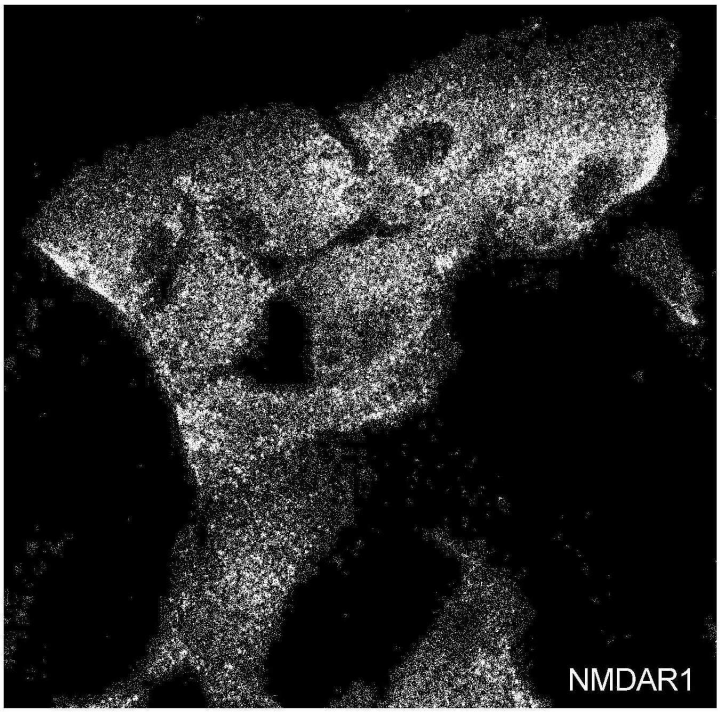
도면12i


100 μM L-글루타메이트에 대한 (+)-MK801
0 nM
49 nM
195 nM
781 nM
3.1 μM
12.5 μM
50 μM
% 효과
150
100
50
0
GluN2A
GluN2B
GluN2C
GluN2D

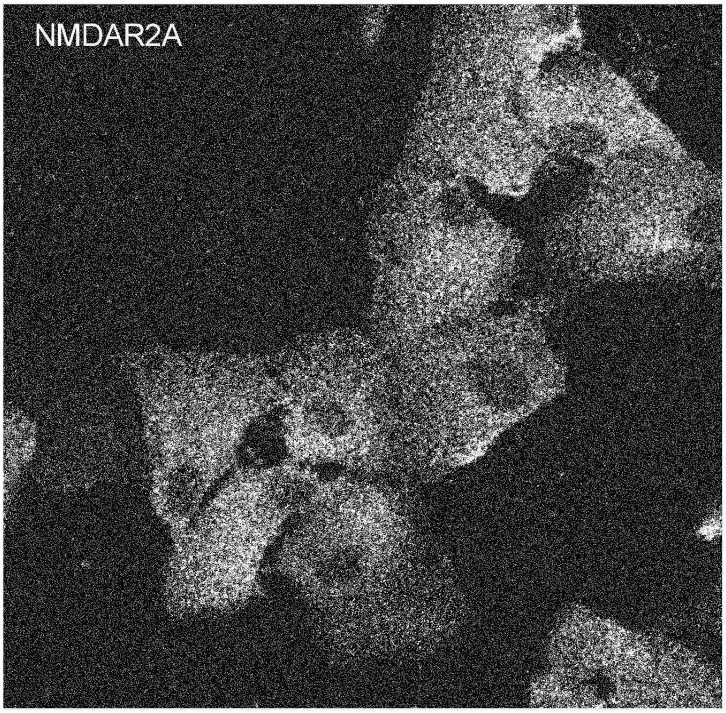
도면12j


1nM L-글루타메이트에 대한 (+)-MK801
0 nM
49 nM
195 nM
781 nM
3.1 μM
12.5 μM
50 μM
% 효과
150
100
50
0
-50
GluN2A
GluN2B
GluN2C
GluN2D

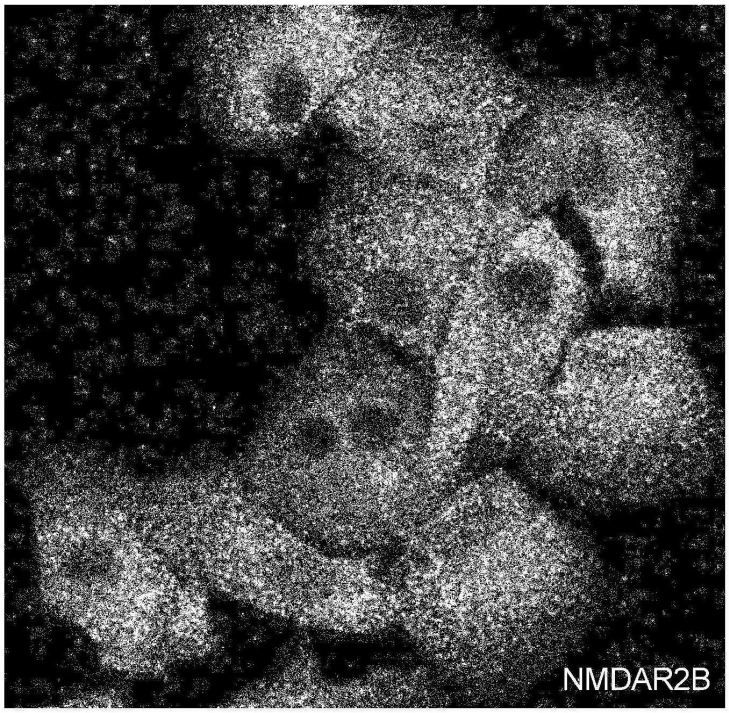
도면13a



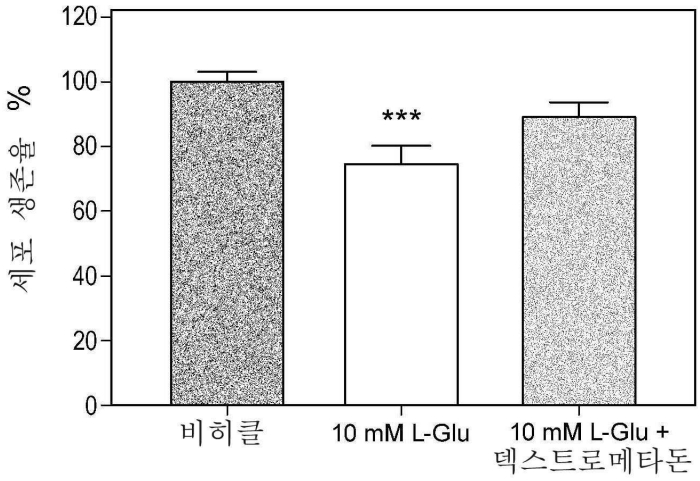
도면13b



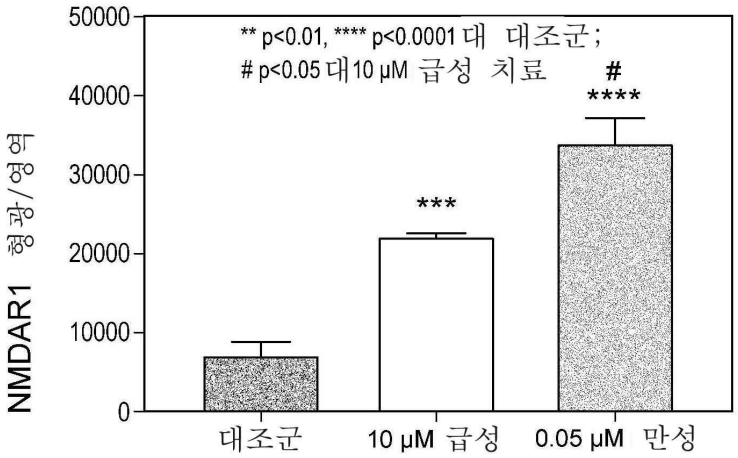
도면13c


NMDAR2B

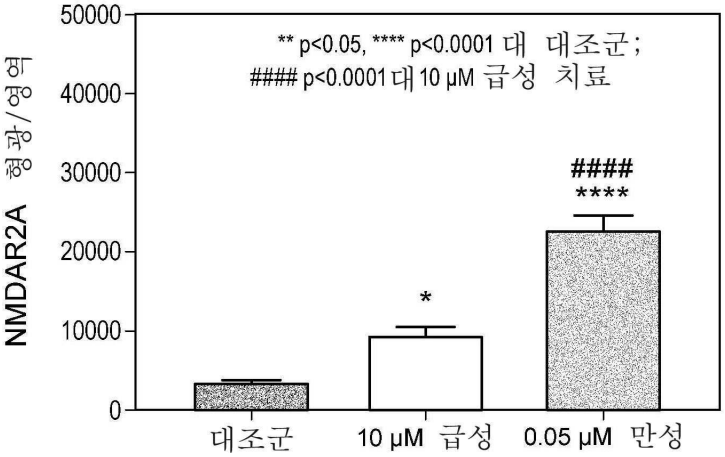
도면14


120
100
80
60
40
20
0
세포 생존율 %
***
비히클
10 mM L-Glu
10 mM L-Glu +
덱스트로메타돈

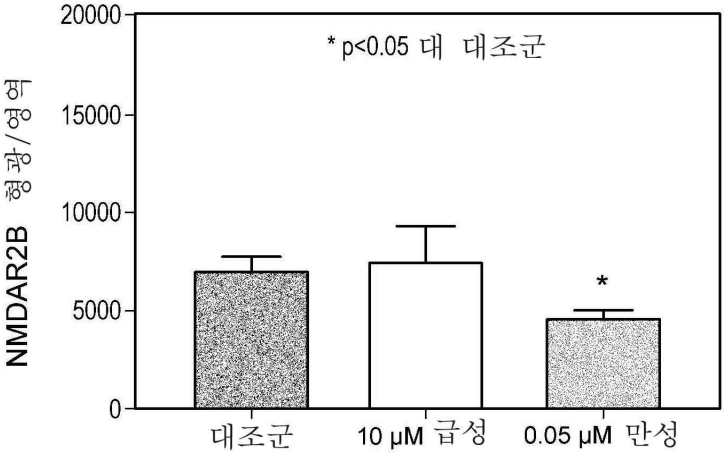
도면15a



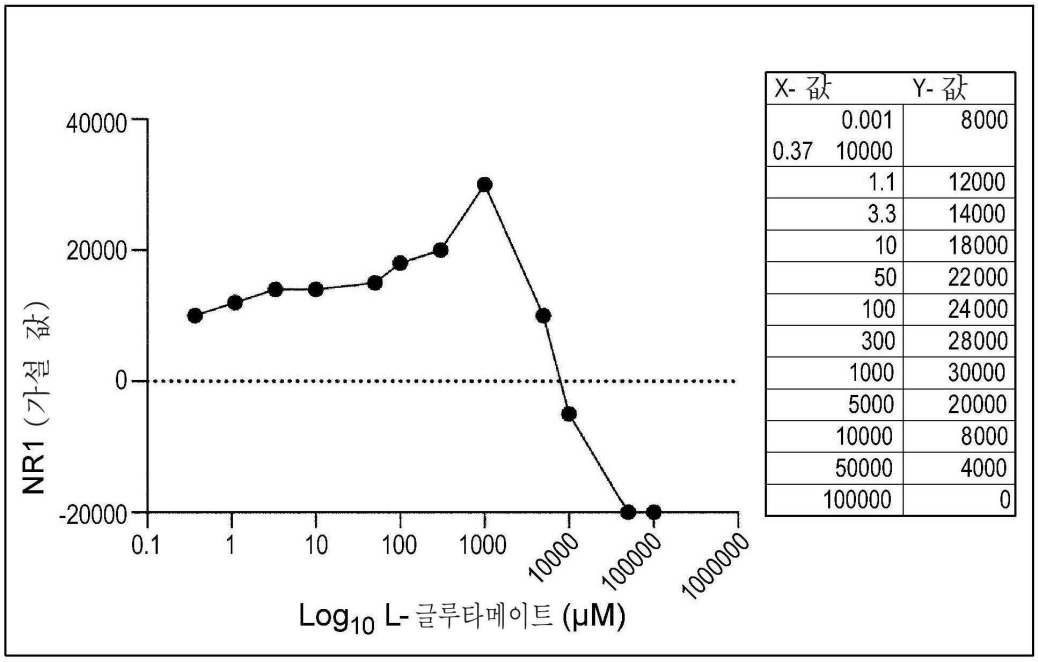
도면15b



도면15c

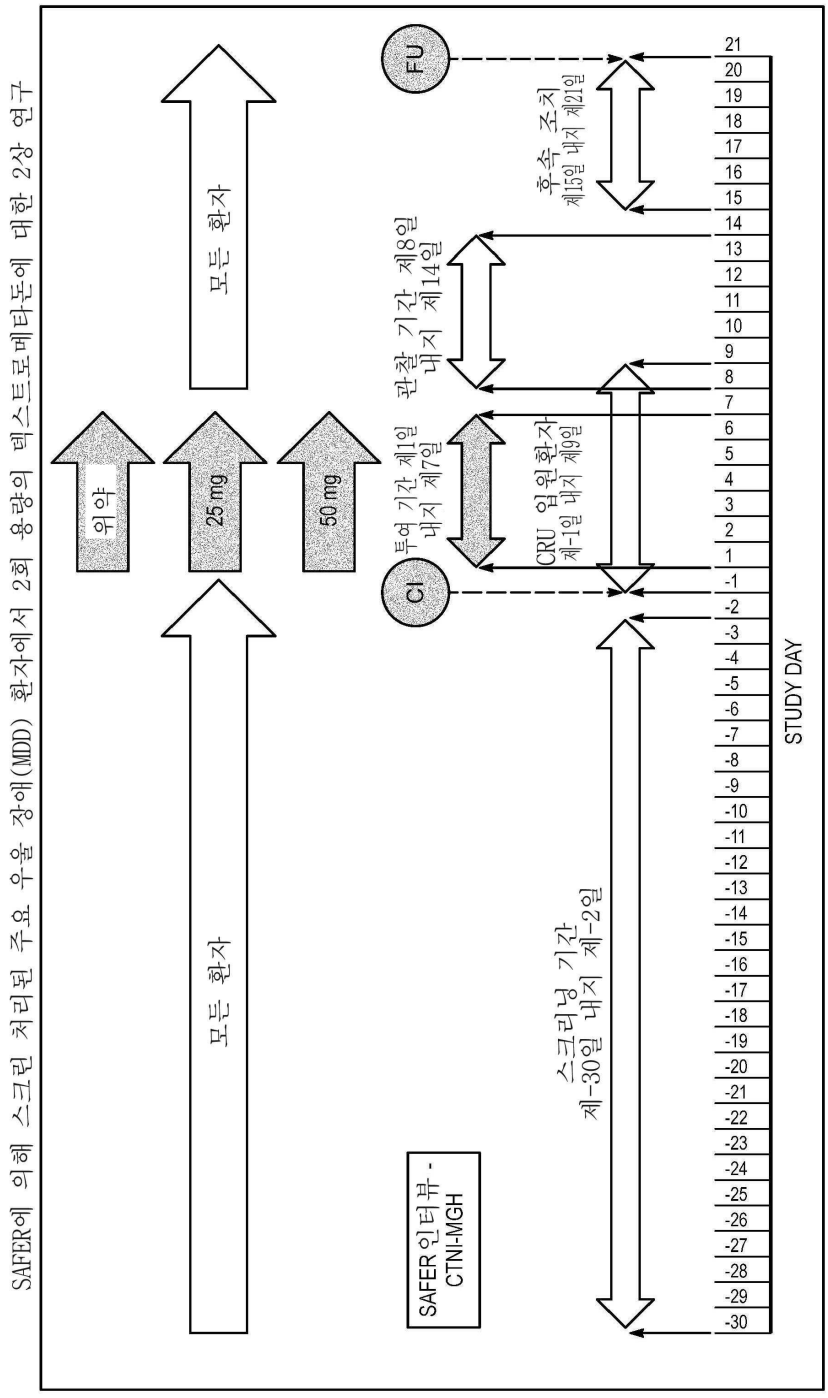


도면16



X- 값	Y- 값
0.001	8000
0.37 10000	
1.1	12000
3.3	14000
10	18000
50	22000
100	24000
300	28000
1000	30000
5000	20000
10000	8000
50000	4000
100000	0

도면17


SAFER에 의해 스크린 처리된 주요 우울 장애(MDD) 환자에서 2회 용량의 덱스트로메타돈에 대한 2상 연구
위약
25 mg
50 mg
모든 환자
모든 환자
CI
FU
투여 기간 제1일 내지 제7일
관찰 기간 제8일 내지 제14일
후속 조치 제15일 내지 제21일
CRU 입원 환자 제-1일 내지 제9일
스크리닝 기간 제-30일 내지 제-2일
SAFER 인터뷰 - CTNI-MGH
STUDY DAY
21
20
19
18
17
16
15
14
13
12
11
10
9
8
7
6
5
4
3
2
1
-1
-2
-3
-4
-5
-6
-7
-8
-9
-10
-11
-12
-13
-14
-15
-16
-17
-18
-19
-20
-21
-22
-23
-24
-25
-26
-27
-28
-29
-30

도면18

일시적 이상 반응 - 전체 요약 안전 집단

	이상 반응의 온셋 치료			
	위약 (N=22)	REL-1017 25mg (N=19)	REL-1017 50mg (N=21)	모든 피시험자 (N=62)
TEAE가 있는 피시험자의 수(%)	12 (54.5%)	9 (47.4%)	15 (71.4%)	36 (58.1%)
심각한 TEAE가 있는 피시험자의 수(%)	0	0	0	0
중증 TEAE가 있는 피시험자의 수(%)	0	0	0	0
관련된 TEAE가 있는 피시험자의 수(%)	7 (31.8%)	6 (31.6%)	10 (47.6%)	23 (37.1%)
TEAE로 인해 약물이 중단된 피시험자의 수(%)	0	0	0	0
TEAE로 인해 연구가 중단된 피시험자의 수(%)	0	0	0	0
AESI가 있는 피시험자의 수(%)	2 (9.1%)	4 (21.1%)	2 (9.5%)	8 (12.9%).

시스템 기관 등급에 의한 일시적 이상 반응 및 선호되는 기간 안전 집단

시스템 기관 등급/ 선호되는 기간	위약 (N=22)	REL-1017 25mg (N=19)	REL-1017 50mg (N=21)	모든 피시험자 (N=62)
임의의 TEAE[1]가 있는 피시험자	12 (54.5%)	9 (47.4%)	15 (71.4%)	36 (58.1%)
위장 장애	8 (36.4%)	5 (26.3%)	5 (23.8%)	18 (29.0%)
변비	3 (13.6%)	1 (5.3%)	3 (14.3%)	7 (11.3%)
메스꺼움	2 (9.1%)	1 (5.3%)	2 (9.5%)	5 (8.1%)
설사	3 (13.6%)	0	0	3 (4.8%)
복부 불편	2 (9.1%)	0	0	2 (3.2%)
소화불량	0	2 (10.5%)	0	2 (3.2%)
공허함	0	1 (5.3%)	0	1 (1.6%)
위식도 역류 질환	1 (4.5%)	0	0	1 (1.6%)
구토	0	1 (5.3%)	0	1 (1.6%)
신경계 장애	6 (27.3%)	4 (21.1%)	6 (28.6%)	16 (25.8%)
두통	3 (13.6%)	2 (10.5%)	3 (14.3%)	8 (12.9%)
졸음	2 (9.1%)	1 (5.3%)	1 (4.8%)	4 (6.5%)
현기증	1 (4.5%)	1 (5.3%)	1 (4.8%)	3 (4.8%)
진정	1 (4.5%)	1 (5.3%)	0	2 (3.2%)
실신 전	0	0	1 (4.8%)	1 (1.6%)
떨림	0	0	1 (4.8%)	1 (1.6%)
감염 및 체내 침입	2 (9.1%)	1 (5.3%)	1 (4.8%)	4 (6.5%)
상부 기도 감염	2 (9.1%)	0	0	2 (3.2%)
인플루엔자	0	0	1 (4.8%)	1 (1.6%)
요로 감염	0	1 (5.3%)	0	1 (1.6%)

공개특허 10-2022-0164470

시스템 기관 등급에 의한 일시적 이상 반응 및 선호되는 기간 안전 집단

시스템 기관 등급/ 선호되는 기간	위약 (N=22)	REL-1017 25mg (N=19)	REL-1017 50mg (N=21)	모든 피시험자 (N=62)
근골격 및 결합 조직 장애	0	1 (5.3%)	3 (14.3%)	4 (6.5%)
허리 통증	0	1 (5.3%)	2 (9.5%)	3 (4.8%)
사지 불편	0	0	1 (4.8%)	1 (1.6%)
일반 장애 및 투여 부위 상태	0	1 (5.3%)	2 (9.5%)	3 (4.8%)
적용 부위 침식	0	0	1 (4.8%)	1 (1.6%)
피로	0	1 (5.3%)	0	1 (1.6%)
휴식 느낌	0	0	1 (4.8%)	1 (1.6%)
조사	0	0	3 (14.3%)	3 (4.8%)
체중 감소	0	0	2 (9.5%)	2 (3.2%)
혈압 상승	0	0	1 (4.8%)	1 (1.6%)
정신 장애	1 (4.5%)	0	1 (4.8%)	2 (3.2%)
비정상적인 꿈	1 (4.5%)	0	0	1 (1.6%)
불안감	0	0	1 (4.8%)	1 (1.6%)
심장 장애	0	1 (5.3%)	0	1 (1.6%)
두근거림	0	1 (5.3%)	0	1 (1.6%)
간담도 장애	0	0	1 (4.8%)	1 (1.6%)
약물 유도 간 손상	0	0	1 (4.8%)	1 (1.6%)
대사 및 영양 장애	0	0	1 (4.8%)	1 (1.6%)
저칼슘혈증	0	0	1 (4.8%)	1 (1.6%)
신장 및 비뇨기 장애	0	1 (5.3%)	0	1 (1.6%)
폴라키뇨증	0	1 (5.3%)	0	1 (1.6%)
피부 및 피하 조직 장애	0	1 (5.3%)	0	1 (1.6%)
가려움증	0	1 (5.3%)	0	1 (1.6%)

공개특허 10-2022-0164470

시스템 기관 등급에 의한 일시적 이상 반응 및 선호되는 기간 안전 집단

시스템 기관 등급/ 선호되는 기간	위약 (N=22)	REL-1017 25mg (N=19)	REL-1017 50mg (N=21)	모든 피시험자 (N=62)
임의의 TEAE[1]가 있는 피시험자	2 (9.1%)	4 (21.1%)	2 (9.5%)	8 (12.9%)
신경계 장애	2 (9.1%)	3 (15.8%)	1 (4.8%)	6 (9.7%)
현기증	1 (4.5%)	1 (5.3%)	0	2 (3.2%)
진정	1 (4.5%)	1 (5.3%)	0	2 (3.2%)
졸음	0	1 (5.3%)	1 (4.8%)	2 (3.2%)
일반 장애 및 투여 부위 상태	0	1 (5.3%)	1 (4.8%)	2 (3.2%)
피로	0	1 (5.3%)	0	1 (1.6%)
휴식 느낌	0	0	1 (4.8%)	1 (1.6%)

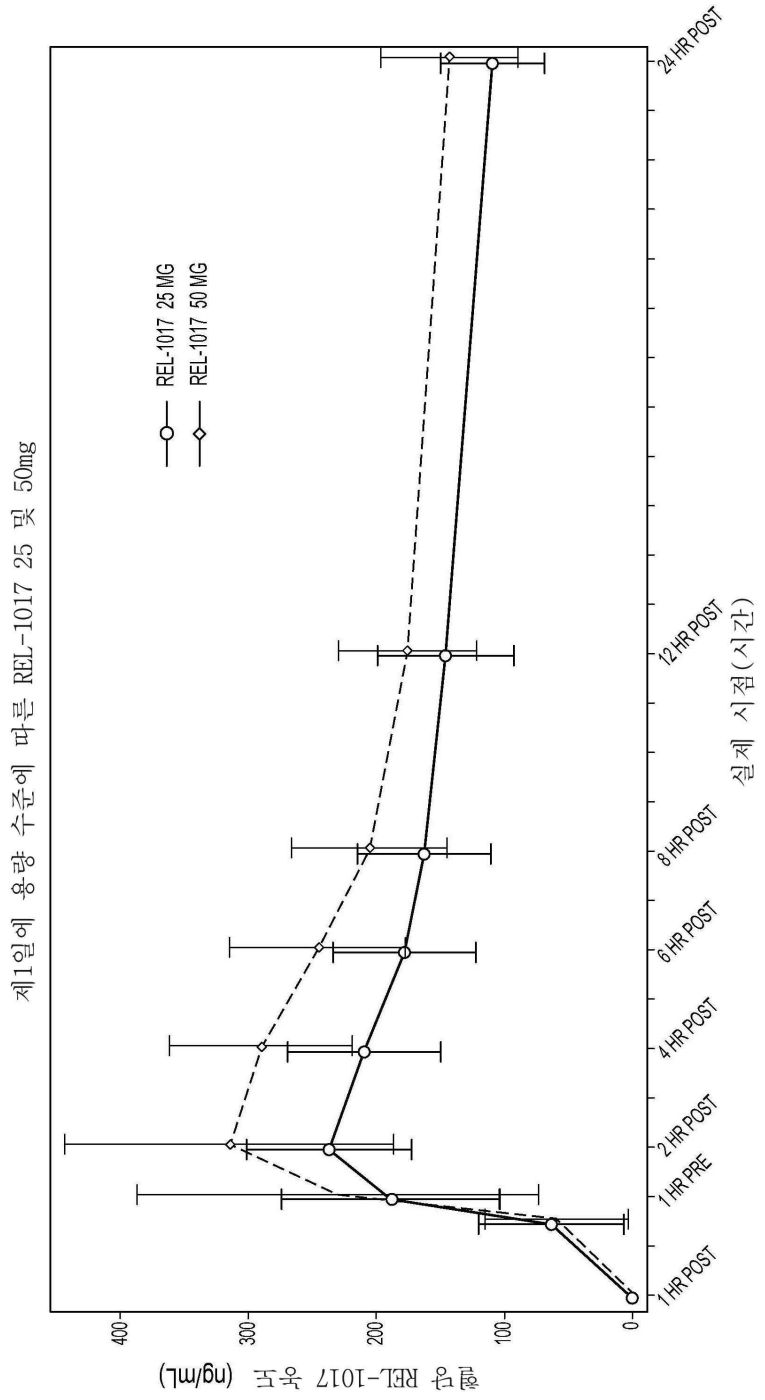
공개특허 10-2022-0164470

임상의가 투여한 해리 상태 척도 점수

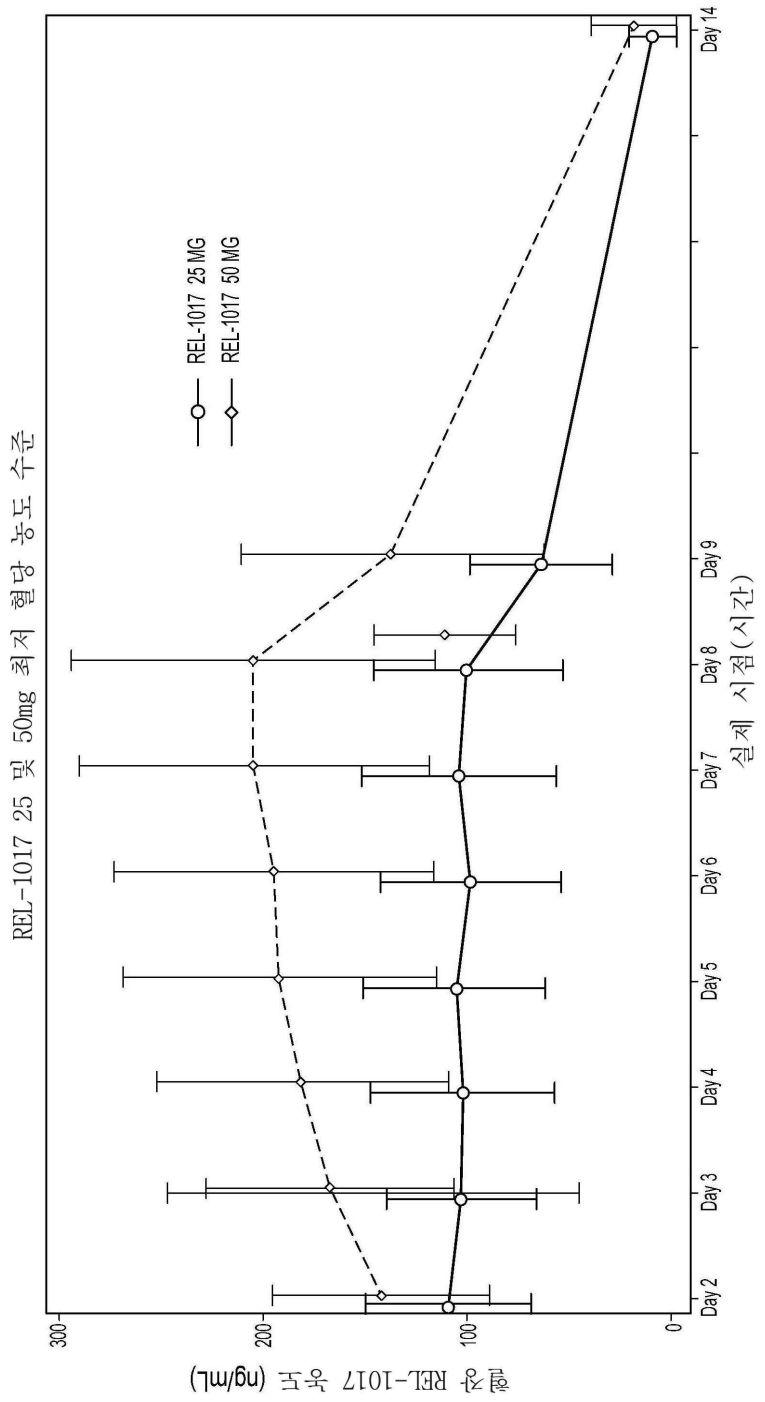
방문/시점	요약 통계	위약 (N=22)	REL-1017 25 mg (N=19)	REL-1017 50 mg (N=21)	모든 피시험자 (N=62)
제1일, 투약 이전	CADSS 총 점수, n	22	19	21	62
	평균 (SD)	0.5 (1.4)	1.6 (5.1)	1.7 (7.6)	1.2 (5.3)
	중앙값	0.0	0.0	0.0	0.0
	Min, Max	0, 6	0, 22	0, 35	0, 35
	<=4	21(95.5%)	18(94.7%)	20(95.2%)	59(95.2%)
	>4	1(4.5%)	1(5.3%)	1(4.8%)	3(4.8%)
제1일, 2시간 투약 이후	CADSS 총 점수, n	22	19	21	62
	평균 (SD)	0.3 (1.3)	0.2 (0.5)	1.8 (4.3)	0.8 (2.7)
	중앙값	0.0	0.0	0.0	0.0
	Min, Max	0, 6	0, 2	0, 14	0, 14
	<=4	21(95.5%)	19(100%)	18(85.7%)	58(93.5%)
	>4	1(4.5%)	0	3(14.3%)	4(6.5%)
제7일(EDP), 2시간 투약 이후	CADSS 총 점수, n	21	19	21	61
	평균 (SD)	0.1 (0.7)	0.4 (1.4)	1.4 (3.5)	0.6 (2.3)
	중앙값	0.0	0.0	0.0	0.0
	Min, Max	0, 3	0, 6	0, 12	0, 12
	<=4	21(100%)	18(94.7%)	18(85.7%)	57(93.4%)
	>4	0	1(5.3%)	3(14.3%)	4(6.6%)
제9일(퇴원)	CADSS 총 점수, n	21	19	21	61
	평균 (SD)	1.1 (5.0)	0.0 (0.0)	0.0 (0.0)	0.4 (2.9)
	중앙값	0.0	0.0	0.0	0.0
	Min, Max	0, 23	0, 0	0, 0	0, 23
	<=4	20(95.2%)	19(100%)	21(100%)	60(98.4%)
	>4	1(4.8%)	0	0	1(1.6%)

공개특허 10-2022-0164470

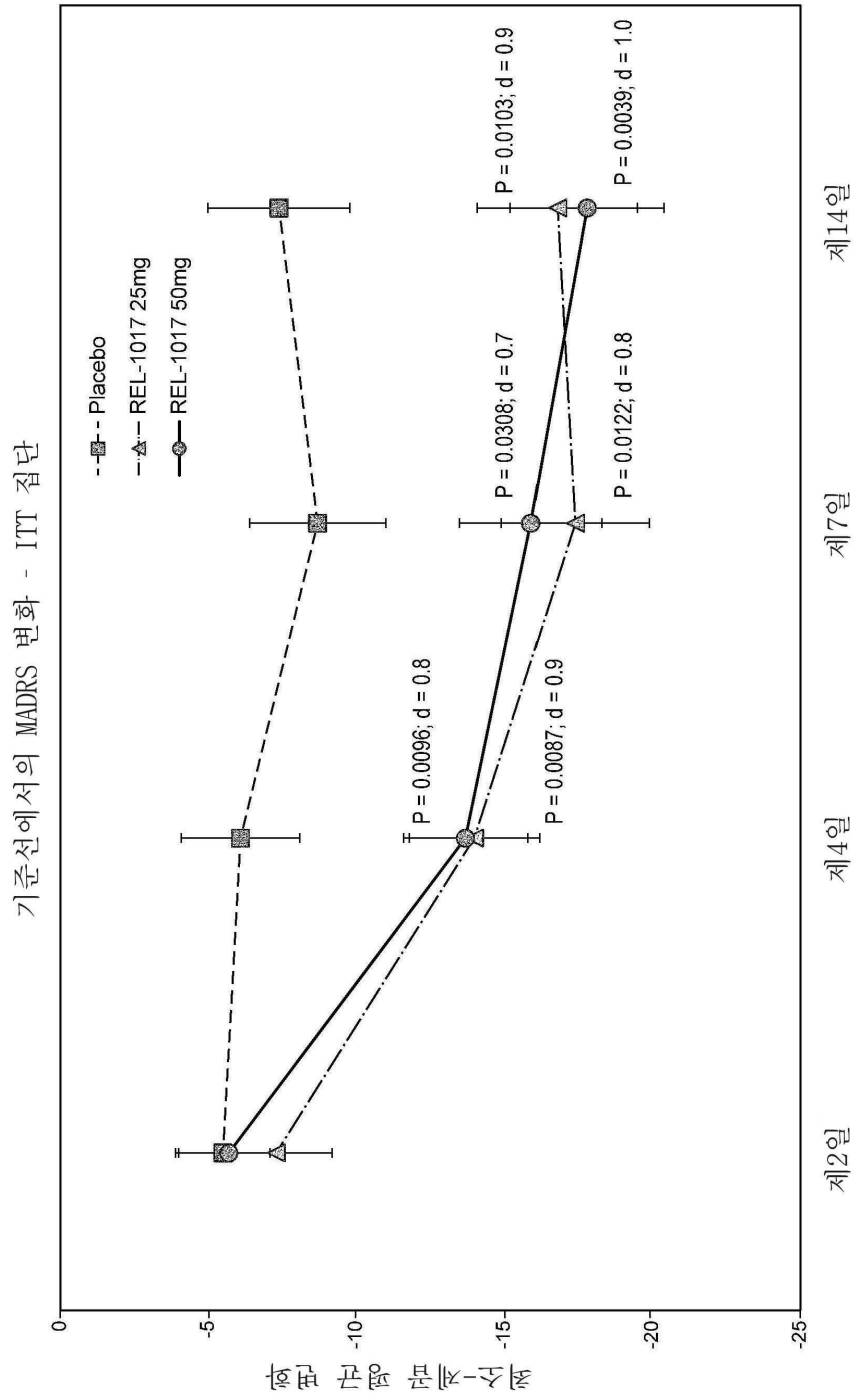
도면22


제1일에 용량 수준에 따른 REL-1017 25 및 50mg
REL-1017 25 MG
REL-1017 50 MG
혈장 REL-1017 농도 (ng/mL)
0
100
200
300
400
1 HR POST
1 HR PRE
2 HR POST
4 HR POST
6 HR POST
8 HR POST
12 HR POST
24 HR POST
실제 시점(시간)

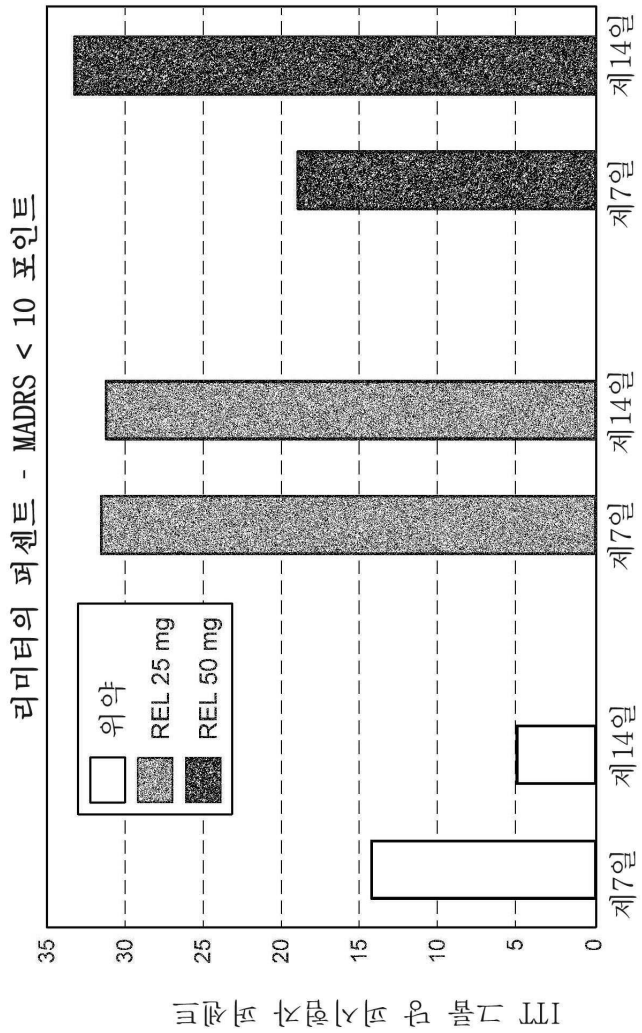
도면23


REL-1017 25 및 50mg 최저 혈당 농도 수준
REL-1017 25 MG
REL-1017 50 MG
혈장 REL-1017 농도 (ng/mL)
300
200
100
0
Day 2
Day 3
Day 4
Day 5
Day 6
Day 7
Day 8
Day 9
Day 14
실제 시점(시간)

도면24

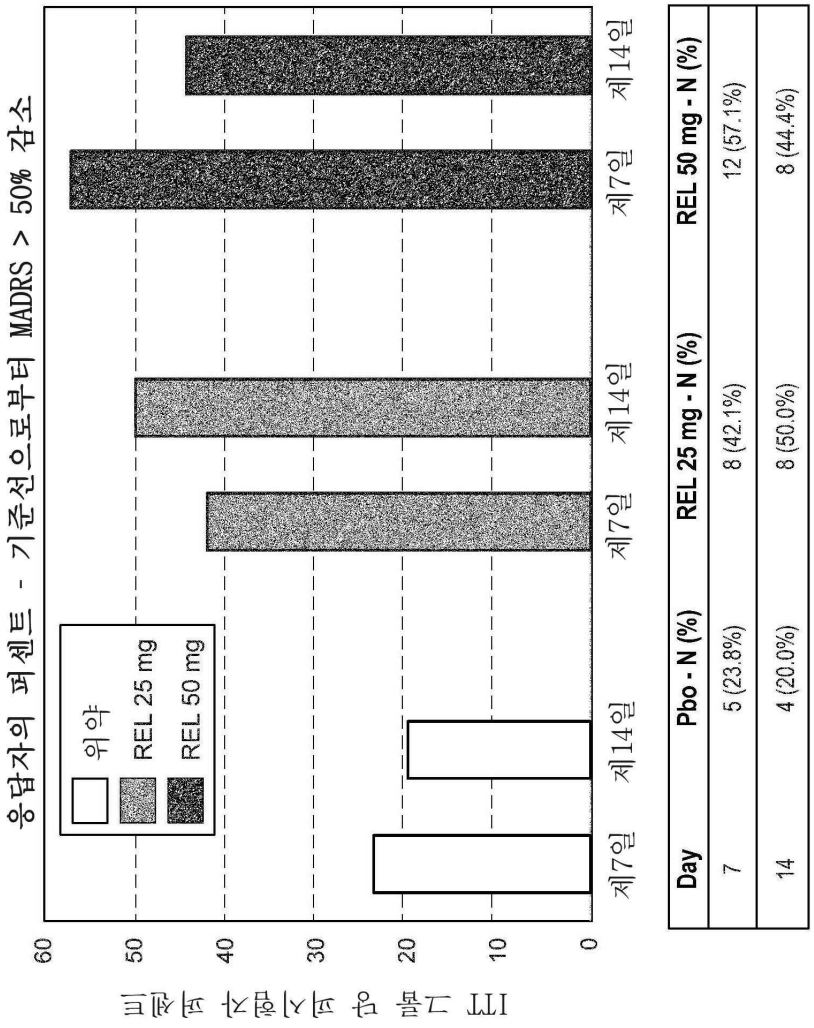

기준선에서의 MADRS 변화 - ITT 집단
Placebo
REL-1017 25mg
REL-1017 50mg
최소-제곱 평균 변화
0
-5
-10
-15
-20
-25
제2일
제4일
제7일
제14일
P = 0.0096; d = 0.8
P = 0.0087; d = 0.9
P = 0.0308; d = 0.7
P = 0.0122; d = 0.8
P = 0.0103; d = 0.9
P = 0.0039; d = 1.0

도면25



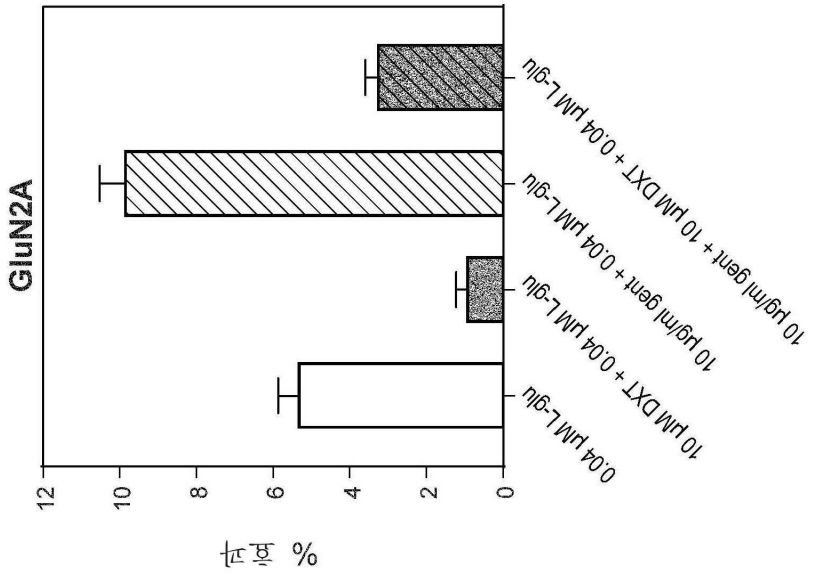
Day	Pbo - N (%)	REL 25 mg - N (%)	REL 50 mg - N (%)
7	3 (14.3%)	6 (31.6%)	4 (19.0%)
14	1 (5.0%)	5 (31.3%)	6 (33.3%)

도면26

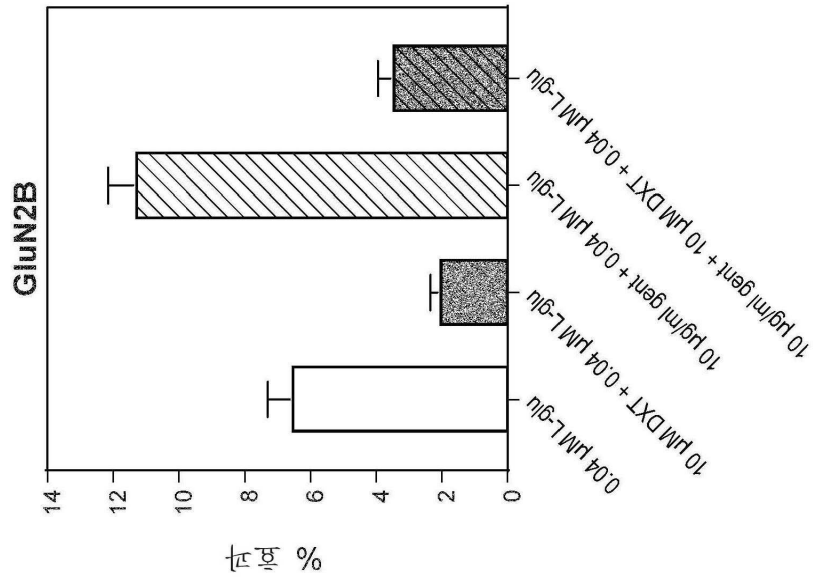


Day	Pbo - N (%)	REL 25 mg - N (%)	REL 50 mg - N (%)
7	5 (23.8%)	8 (42.1%)	12 (57.1%)
14	4 (20.0%)	8 (50.0%)	8 (44.4%)

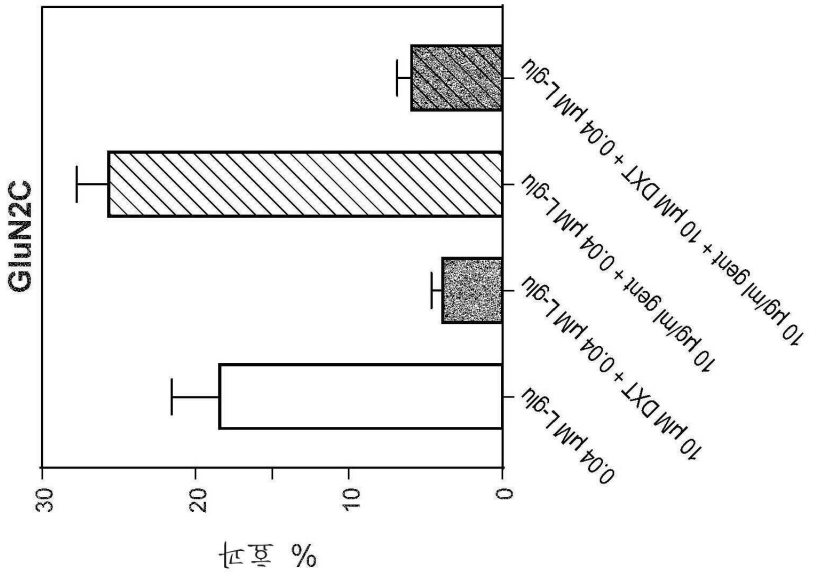
도면27a



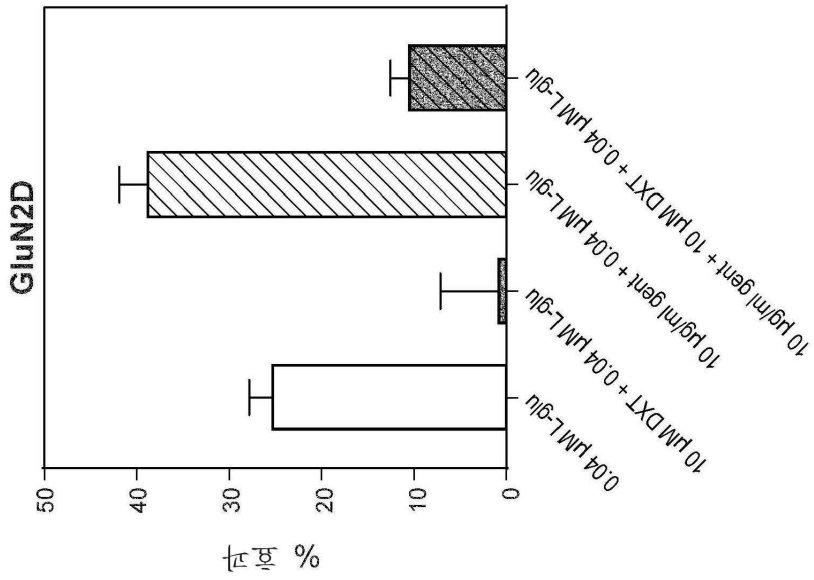
도면27b


GluN2B
% 효과
14
12
10
8
6
4
2
0
0.04 μM L-glu
10 μM DXT + 0.04 μM L-glu
10 μg/ml gent + 0.04 μM L-glu
10 μg/ml gent + 10 μM DXT + 0.04 μM L-glu

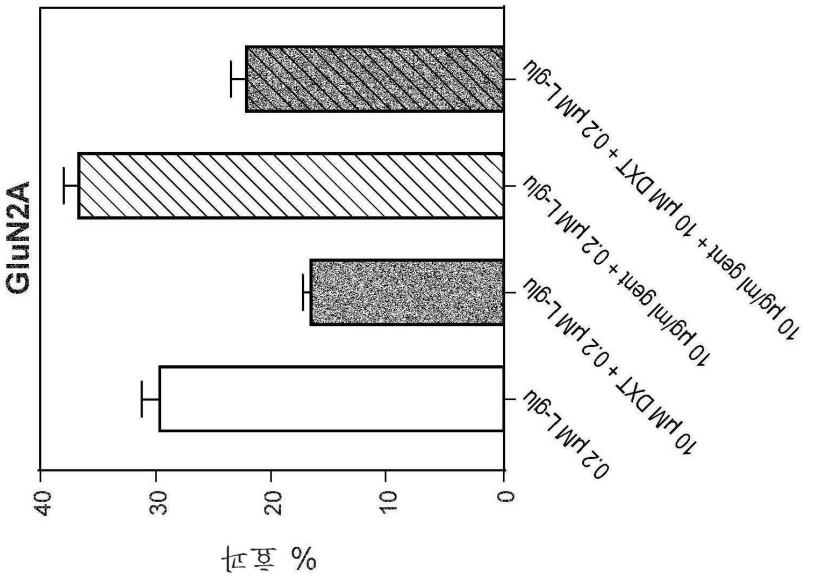
도면27c


GluN2C
% 효과
30
20
10
0
0.04 μM L-glu
10 μM DXT + 0.04 μM L-glu
10 μg/ml gent + 0.04 μM L-glu
10 μg/ml gent + 10 μM DXT + 0.04 μM L-glu

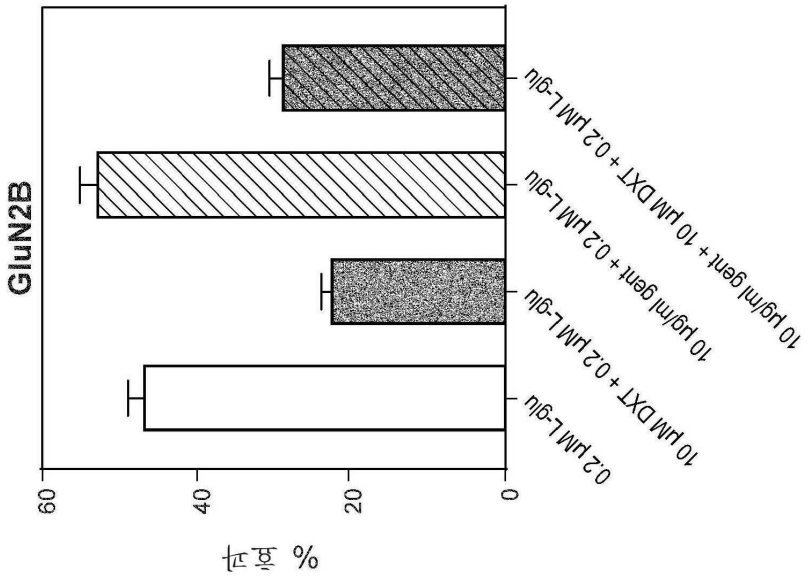
도면27d


GluN2D
% 억제
50
40
30
20
10
0
0.04 μM L-glu
10 μM DXT + 0.04 μM L-glu
10 μg/ml gent + 0.04 μM L-glu
10 μg/ml gent + 10 μM DXT + 0.04 μM L-glu

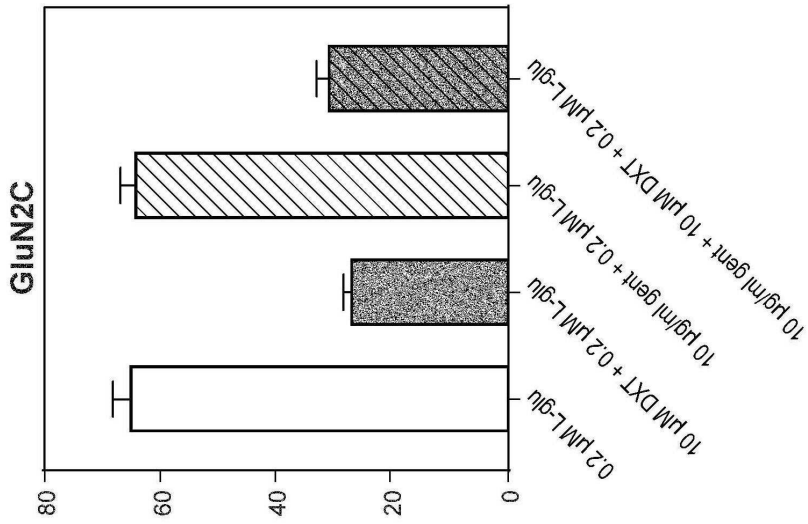
도면28a


GluN2A
% 억제
40
30
20
10
0
0.2 μM L-glu
10 μM DXT + 0.2 μM L-glu
10 μg/ml gent + 0.2 μM L-glu
10 μg/ml gent + 10 μM DXT + 0.2 μM L-glu

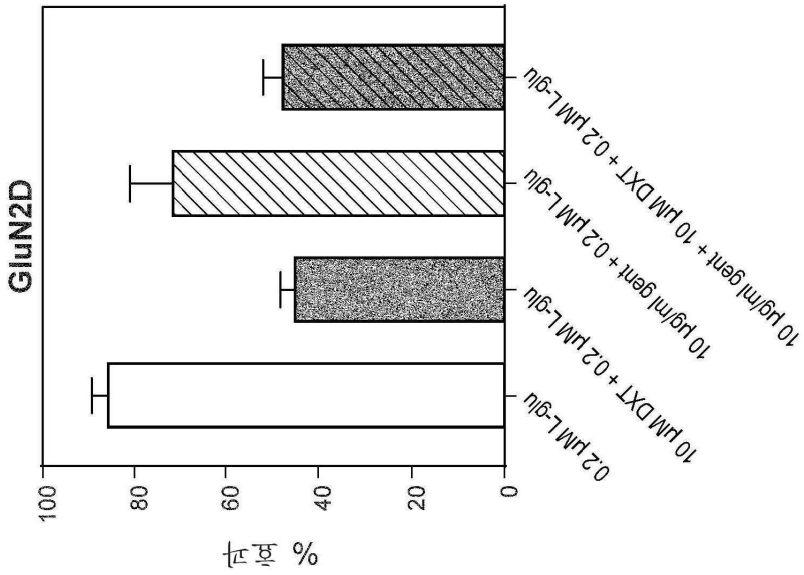
도면28b


GluN2B
% 효과
0
20
40
60
0.2 μM L-glu
10 μM DXT + 0.2 μM L-glu
10 μg/ml gent + 0.2 μM L-glu
10 μg/ml gent + 10 μM DXT + 0.2 μM L-glu

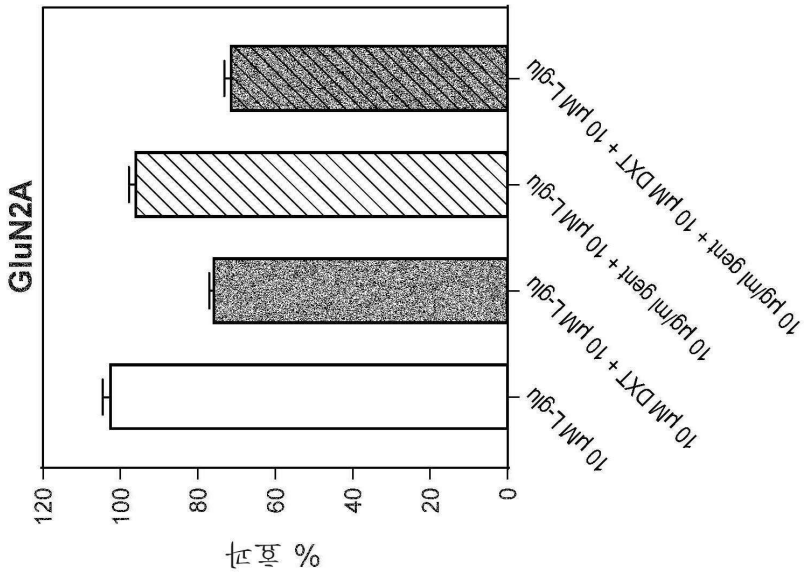
도면28c


GluN2C
0
20
40
60
80
0.2 μM L-glu
10 μM DXT + 0.2 μM L-glu
10 μg/ml gent + 0.2 μM L-glu
10 μg/ml gent + 10 μM DXT + 0.2 μM L-glu

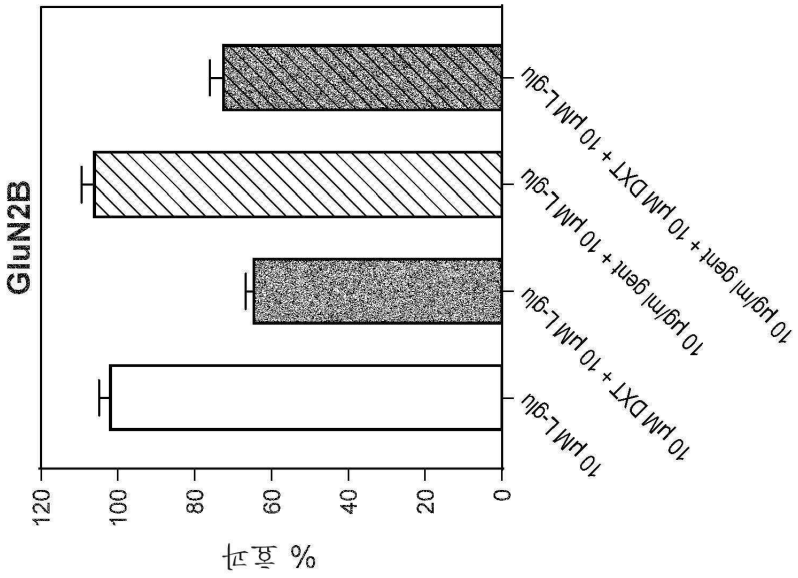
도면28d


GluN2D
% 효과
100
80
60
40
20
0
0.2 μM L-glu
10 μM DXT + 0.2 μM L-glu
10 μg/ml gent + 0.2 μM L-glu
10 μg/ml gent + 10 μM DXT + 0.2 μM L-glu

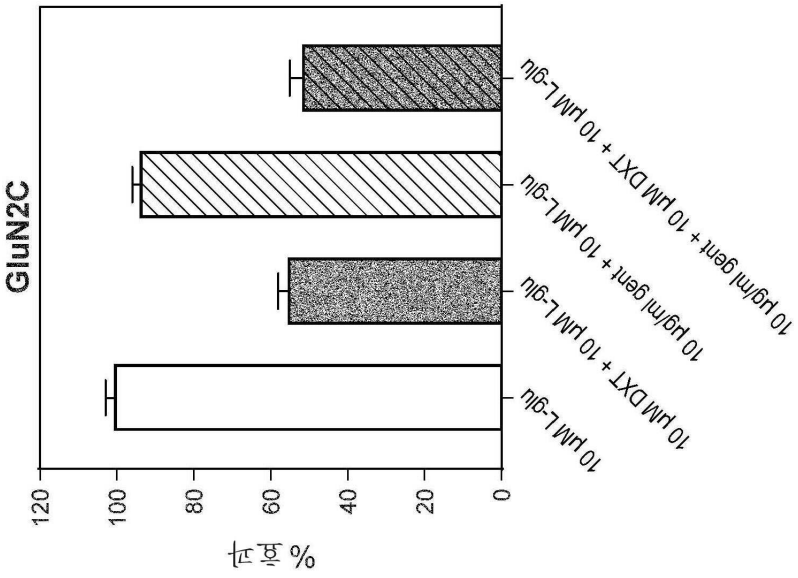
도면29a


GluN2A
% 효과
120
100
80
60
40
20
0
10 μM L-glu
10 μM DXT + 10 μM L-glu
10 μg/ml gent + 10 μM L-glu
10 μg/ml gent + 10 μM DXT + 10 μM L-glu

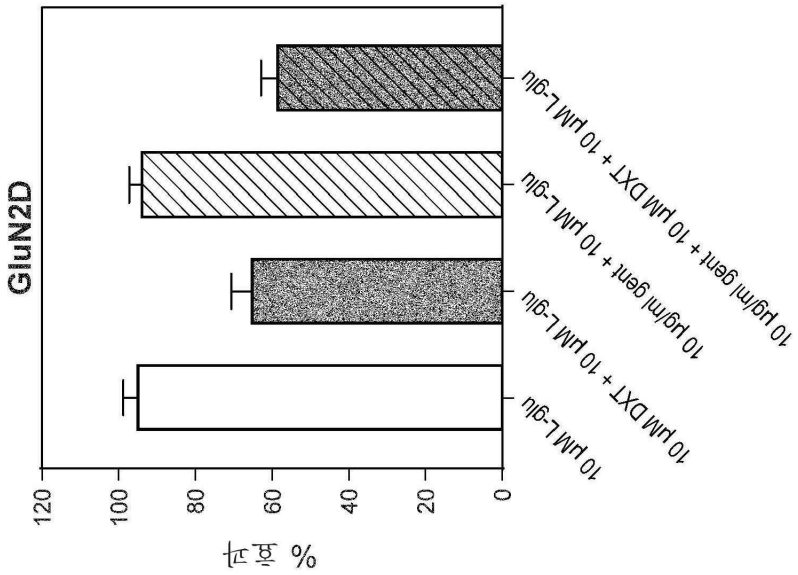
도면29b


GluN2B
% 효과
120
100
80
60
40
20
0
10 μM L-glu
10 μM DXT + 10 μM L-glu
10 μg/ml gent + 10 μM L-glu
10 μg/ml gent + 10 μM L-glu + 10 μM DXT

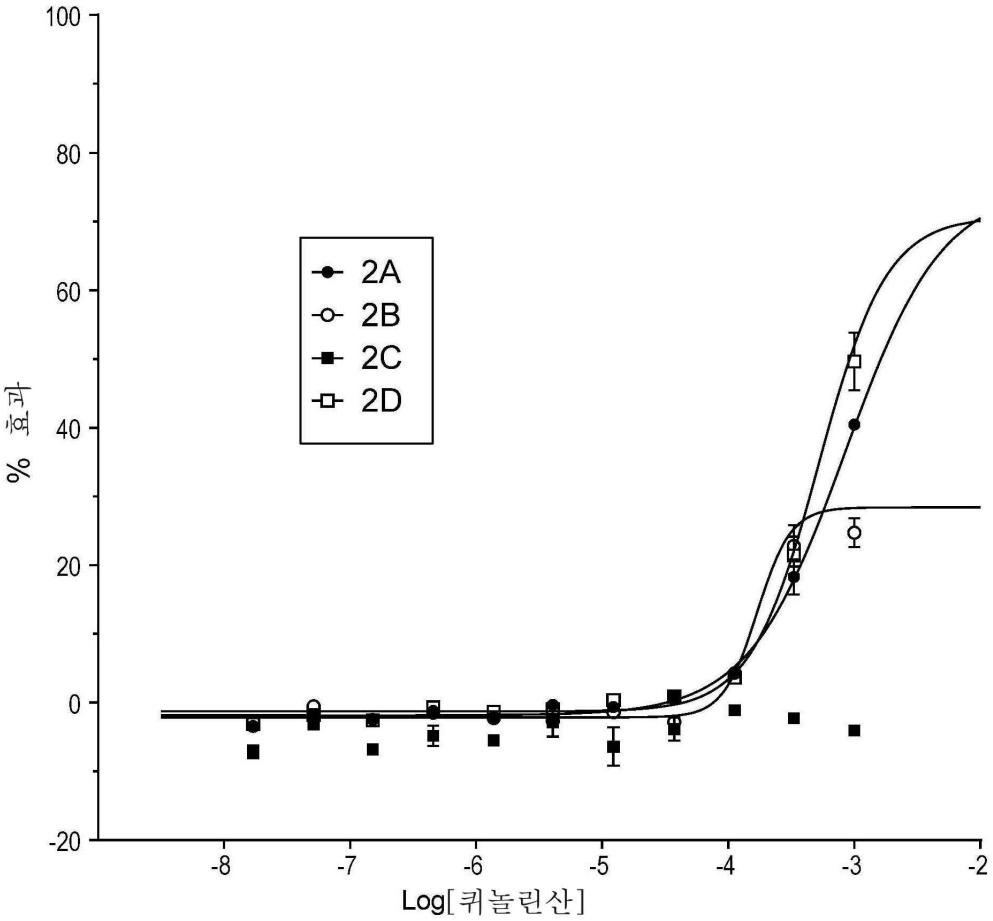
도면29c


GluN2C
% 효과
120
100
80
60
40
20
0
10 μM L-glu
10 μM DXT + 10 μM L-glu
10 μg/ml gent + 10 μM L-glu
10 μg/ml gent + 10 μM L-glu + 10 μM DXT

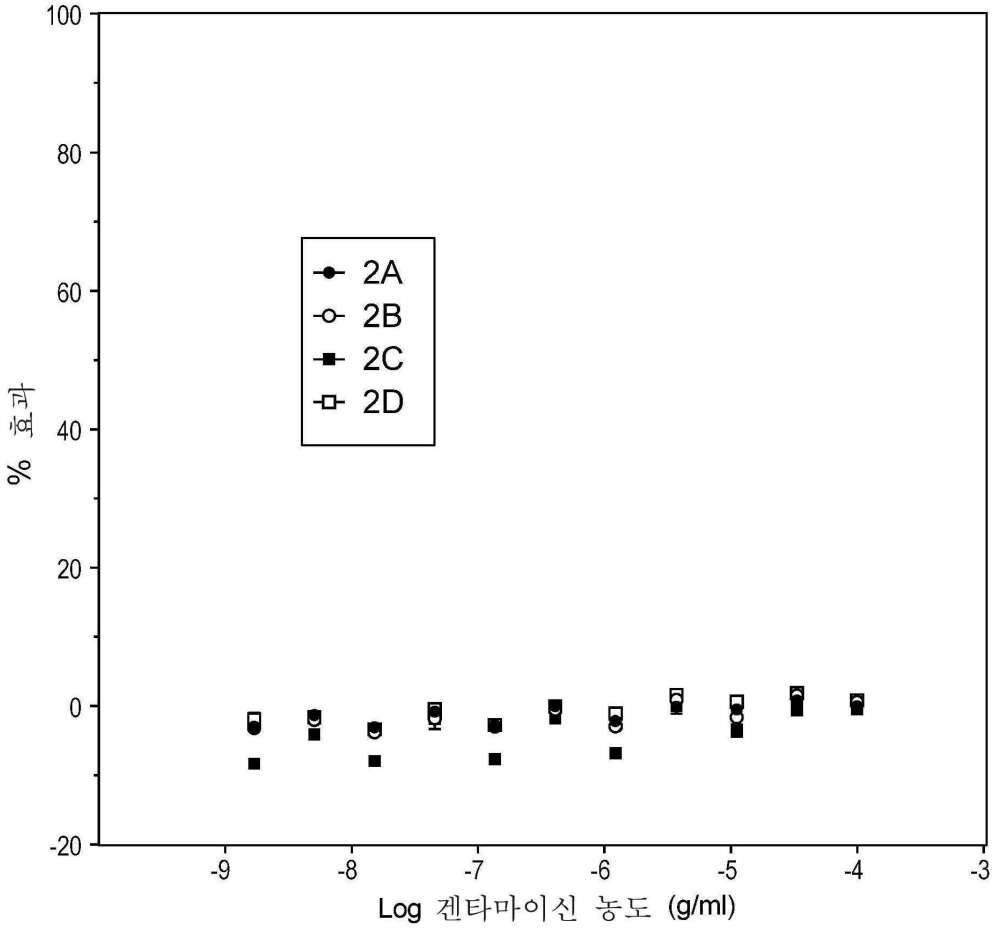
도면29d


GluN2D
10 μM L-glu
10 μM DXT + 10 μM L-glu
10 μg/ml gent + 10 μM L-glu
10 μg/ml gent + 10 μM DXT + 10 μM L-glu
120
100
80
60
40
20
0
효과 %

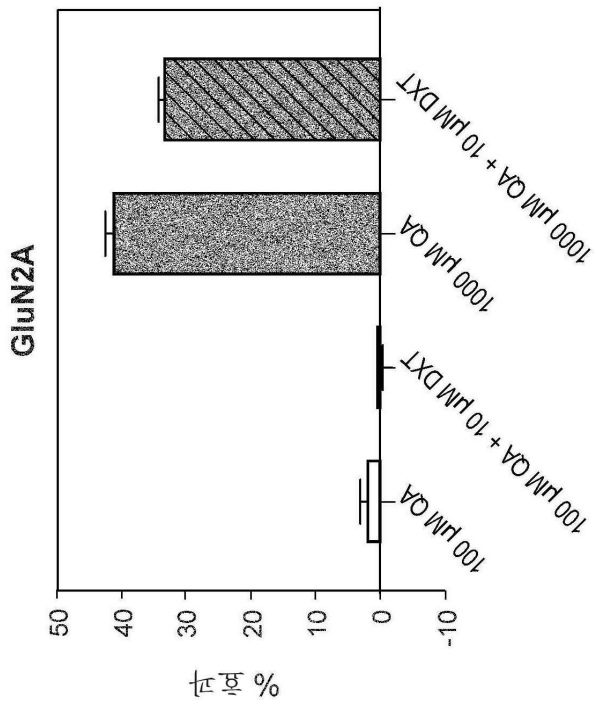
도면30


2A
2B
2C
2D
% 효과
100
80
60
40
20
0
-20
-8
-7
-6
-5
-4
-3
-2
Log[퀴놀린산]

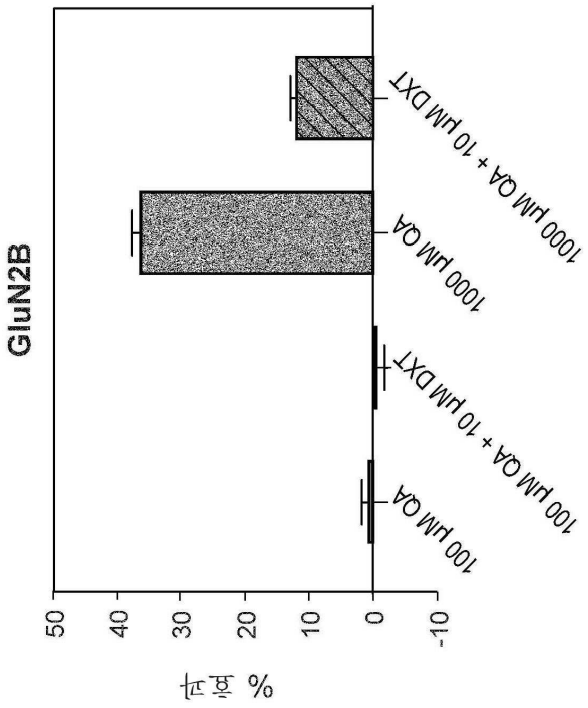
도면31


100
80
60
40
20
0
-20
% 효과
2A
2B
2C
2D
-9
-8
-7
-6
-5
-4
-3
Log 겐타마이신 농도 (g/ml)

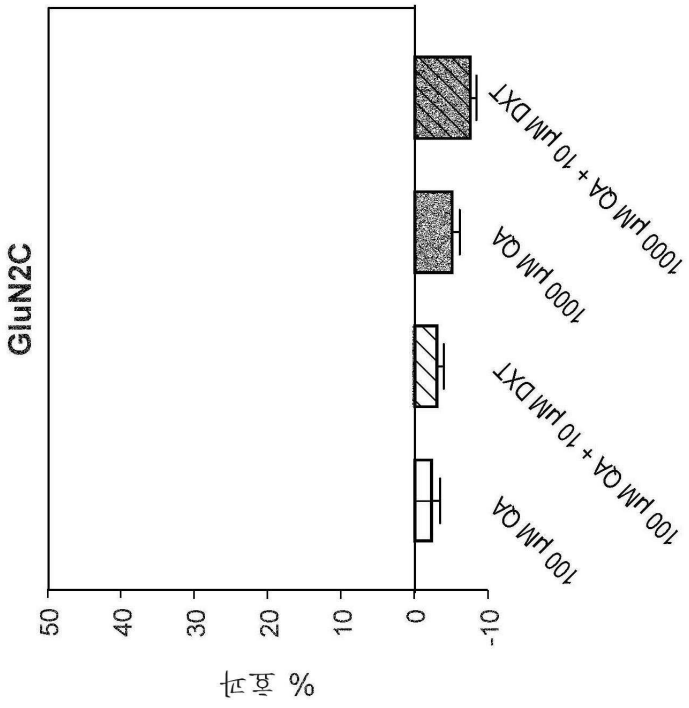
도면32a


GluN2A
50
40
30
20
10
0
-10
% 효과
100 μM QA
100 μM QA + 10 μM DXT
1000 μM QA
1000 μM QA + 10 μM DXT

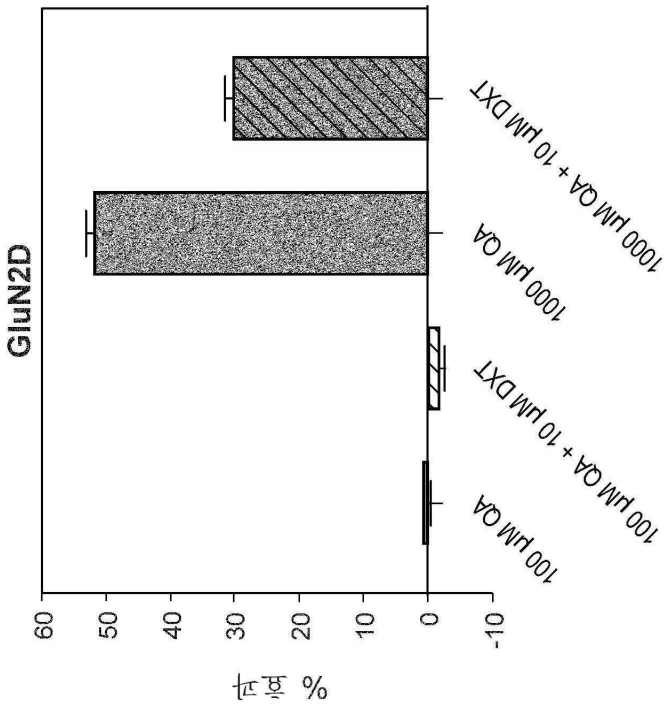
도면32b


GluN2B
100 μM QA
100 μM QA + 10 μM DXT
1000 μM QA
1000 μM QA + 10 μM DXT
50
40
30
20
10
0
-10
% 효과

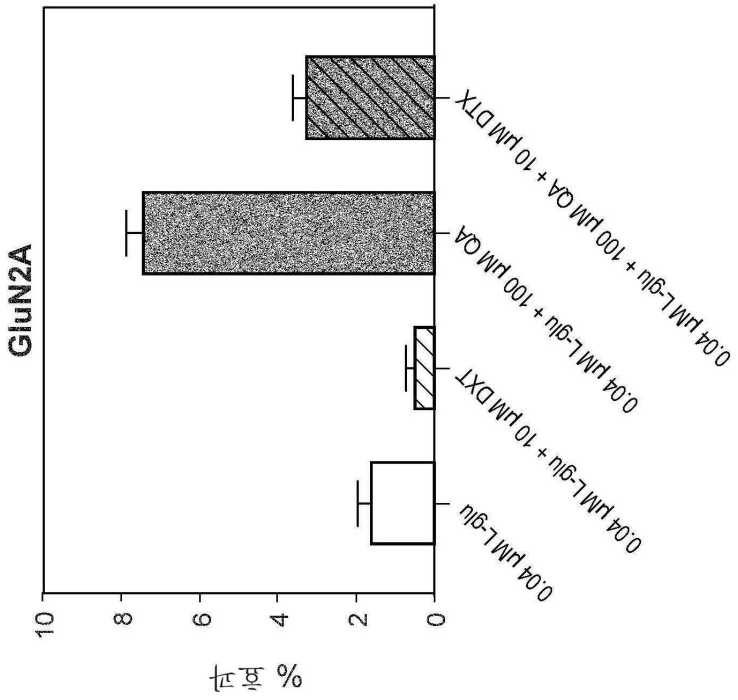
도면32c


GluN2C
100 μM QA
100 μM QA + 10 μM DXT
1000 μM QA
1000 μM QA + 10 μM DXT
50
40
30
20
10
0
-10
% 효과

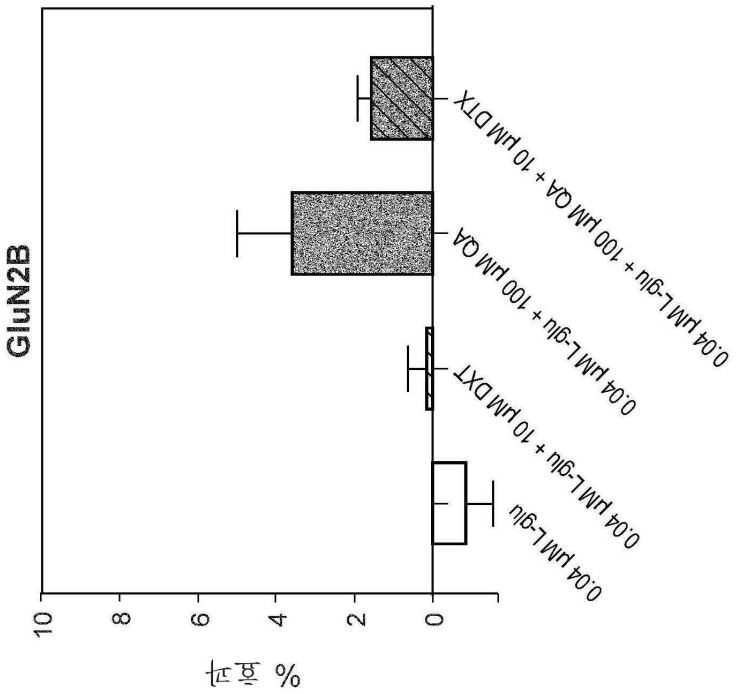
도면32d


GluN2D
% 효과
60
50
40
30
20
10
0
-10
100 μM QA
100 μM QA + 10 μM DXT
1000 μM QA
1000 μM QA + 10 μM DXT

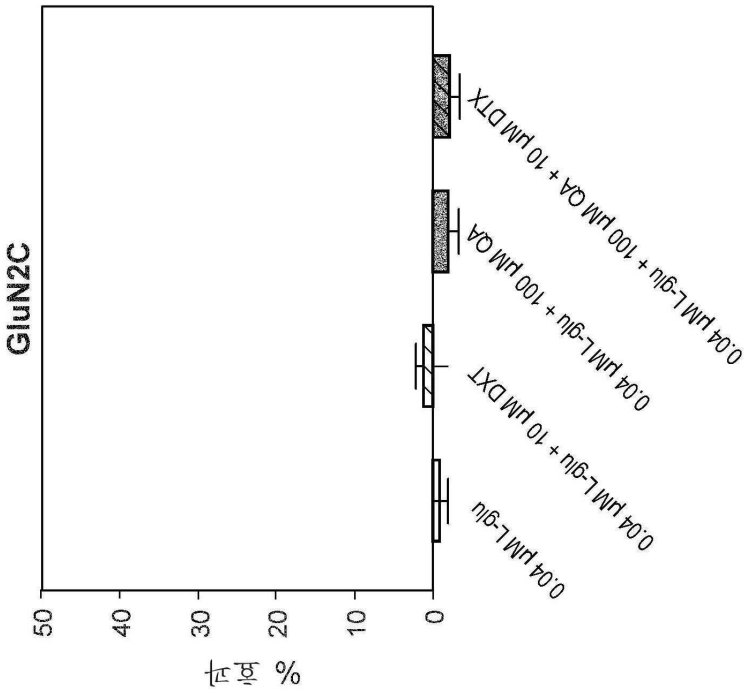
도면33a


GluN2A
% 효과
10
8
6
4
2
0
0.04 μM L-glu
0.04 μM L-glu + 10 μM DXT
0.04 μM L-glu + 100 μM QA
0.04 μM L-glu + 100 μM QA + 10 μM DTX

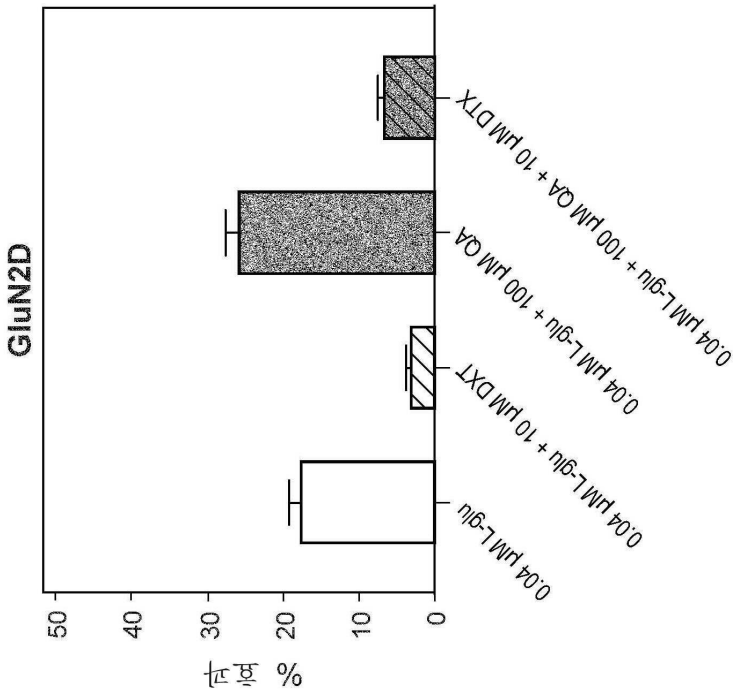
도면33b


GluN2B
% 효과
10
8
6
4
2
0
0.04 μM L-glu
0.04 μM L-glu + 10 μM DXT
0.04 μM L-glu + 100 μM QA
0.04 μM L-glu + 100 μM QA + 10 μM DTX

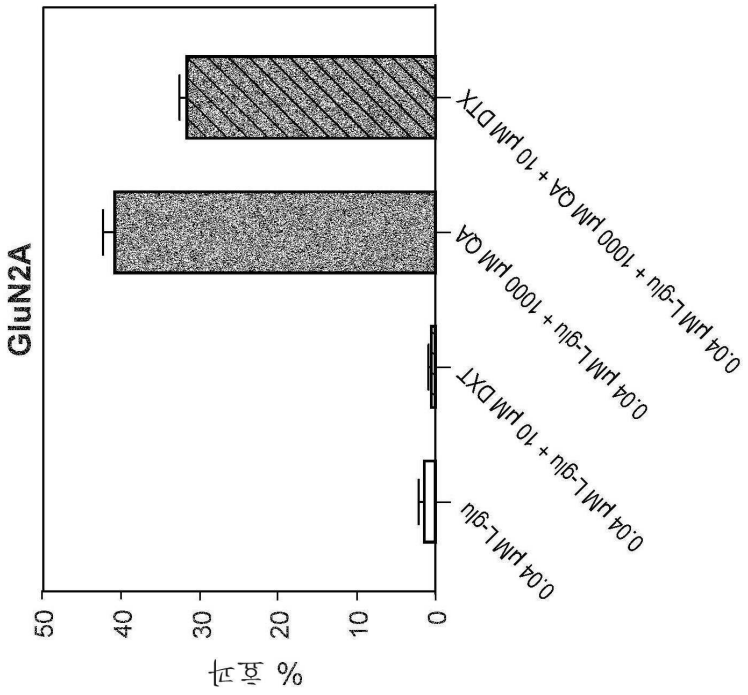
도면33c


GluN2C
% 효과
50
40
30
20
10
0
0.04 μM L-glu
0.04 μM L-glu + 10 μM DXT
0.04 μM L-glu + 100 μM QA
0.04 μM L-glu + 100 μM QA + 10 μM DTX

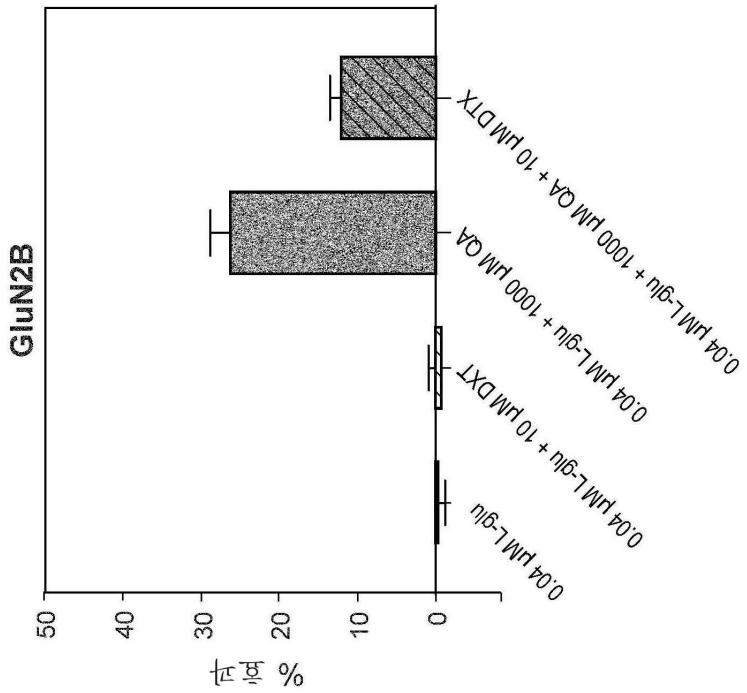
도면33d


GluN2D
% 효과
50
40
30
20
10
0
0.04 μM L-glu
0.04 μM L-glu + 10 μM DXT
0.04 μM L-glu + 100 μM QA
0.04 μM L-glu + 100 μM QA + 10 μM DTX

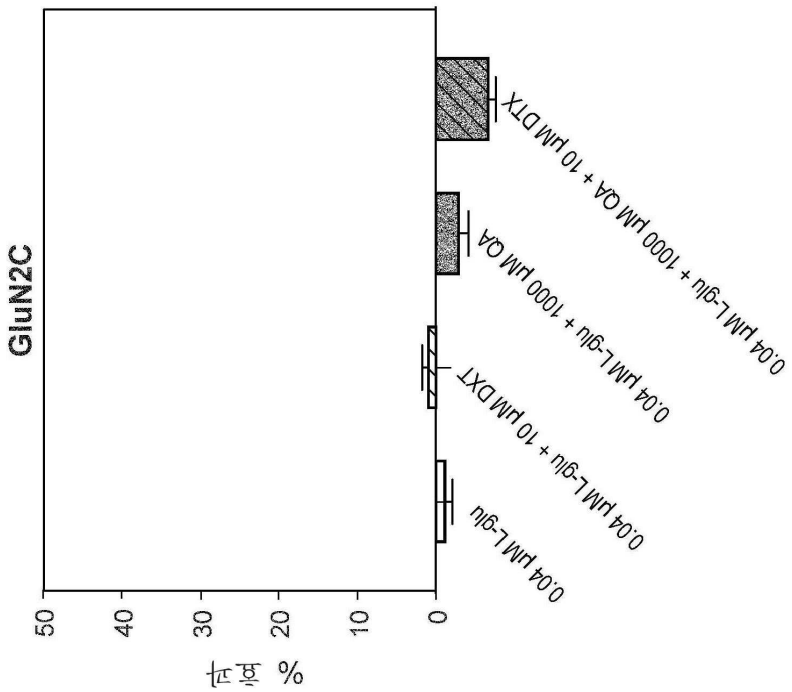
도면34a


GluN2A
% 효과
50
40
30
20
10
0
0.04 μM L-glu
0.04 μM L-glu + 10 μM DXT
0.04 μM L-glu + 1000 μM QA
0.04 μM L-glu + 1000 μM QA + 10 μM DTX

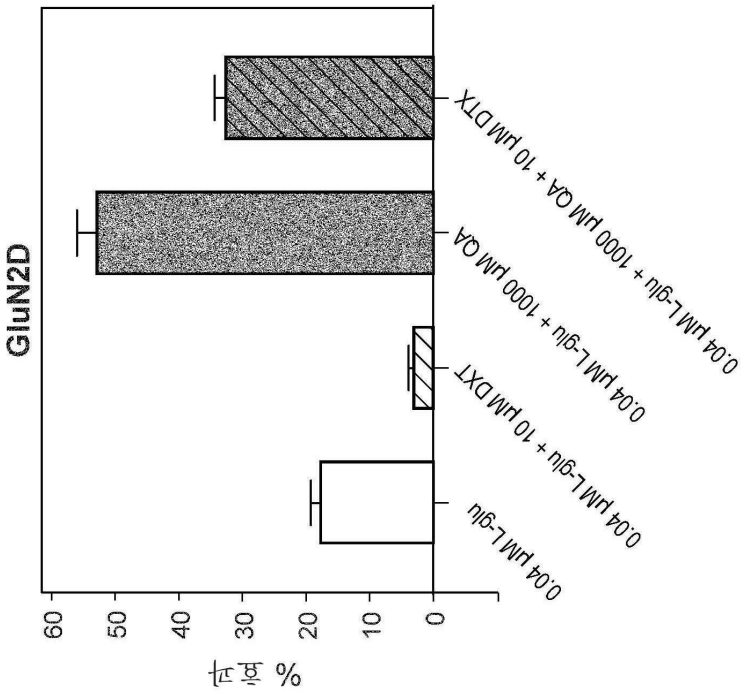
도면34b


GluN2B
% 효과
50
40
30
20
10
0
0.04 μM L-glu
0.04 μM L-glu + 10 μM DXT
0.04 μM L-glu + 1000 μM QA
0.04 μM L-glu + 1000 μM QA + 10 μM DTX

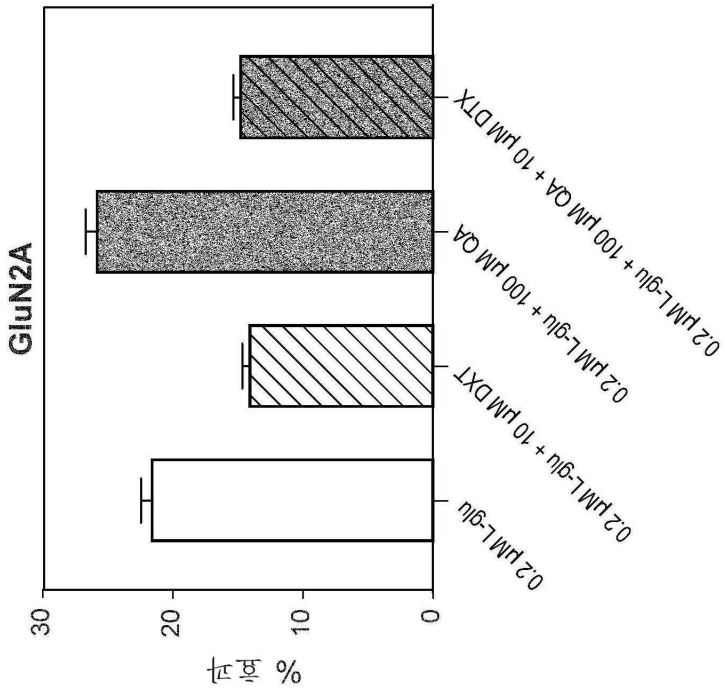
도면34c


GluN2C
% 효과
50
40
30
20
10
0
0.04 μM L-glu
0.04 μM L-glu + 10 μM DXT
0.04 μM L-glu + 1000 μM QA
0.04 μM L-glu + 1000 μM QA + 10 μM DTX

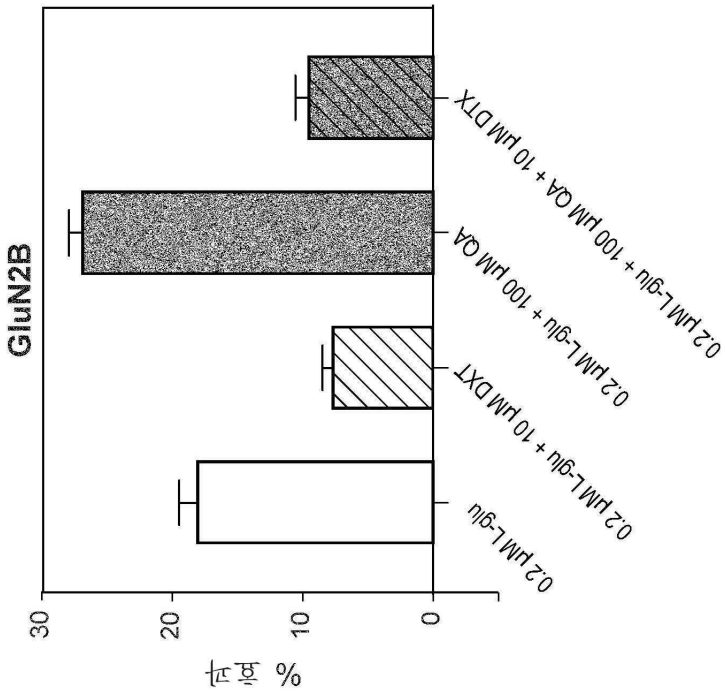
도면34d


GluN2D
% 효과
60
50
40
30
20
10
0
0.04 μM L-glu
0.04 μM L-glu + 10 μM DXT
0.04 μM L-glu + 1000 μM QA
0.04 μM L-glu + 1000 μM QA + 10 μM DTX

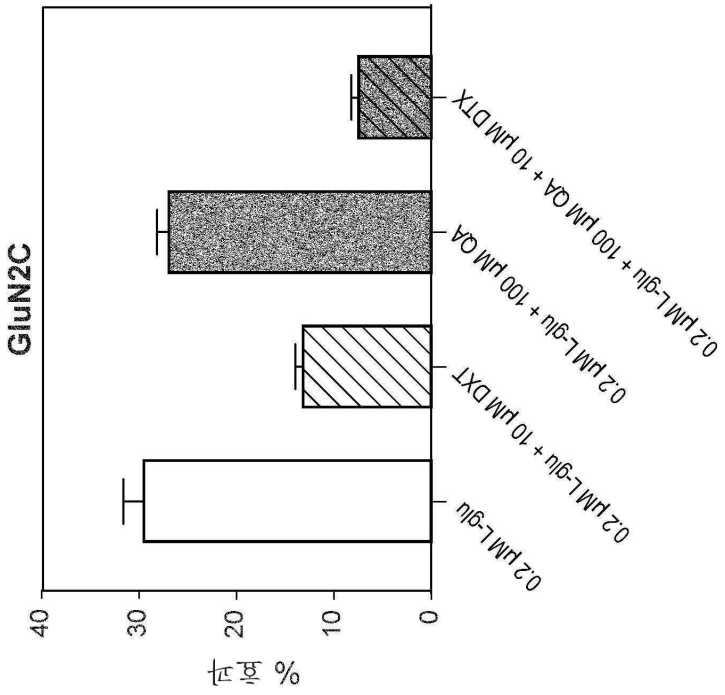
도면35a


GluN2A
% 효과
30
20
10
0
0.2 μM L-glu
0.2 μM L-glu + 10 μM DXT
0.2 μM L-glu + 100 μM QA
0.2 μM L-glu + 100 μM QA + 10 μM DTX

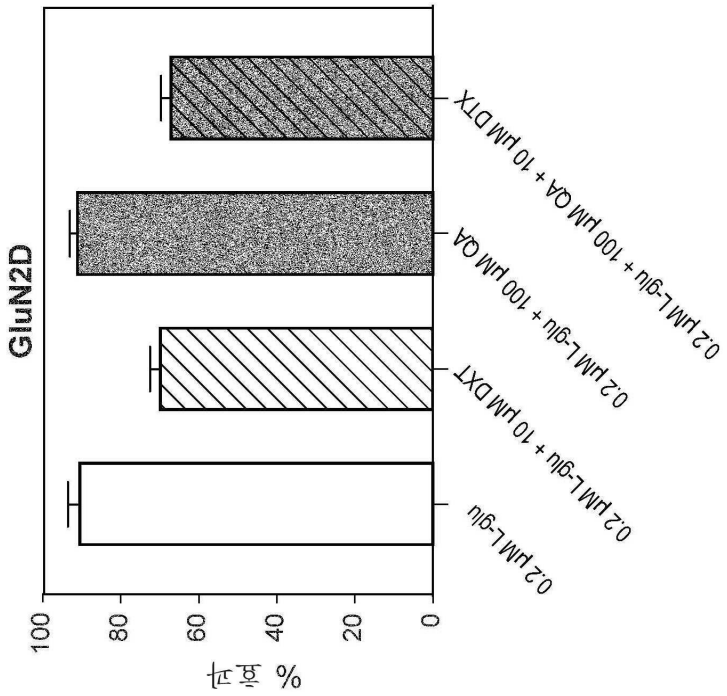
도면35b


GluN2B
% 효과
0
10
20
30
0.2 μM L-glu
0.2 μM L-glu + 10 μM DXT
0.2 μM L-glu + 100 μM QA
0.2 μM L-glu + 100 μM QA + 10 μM DTX

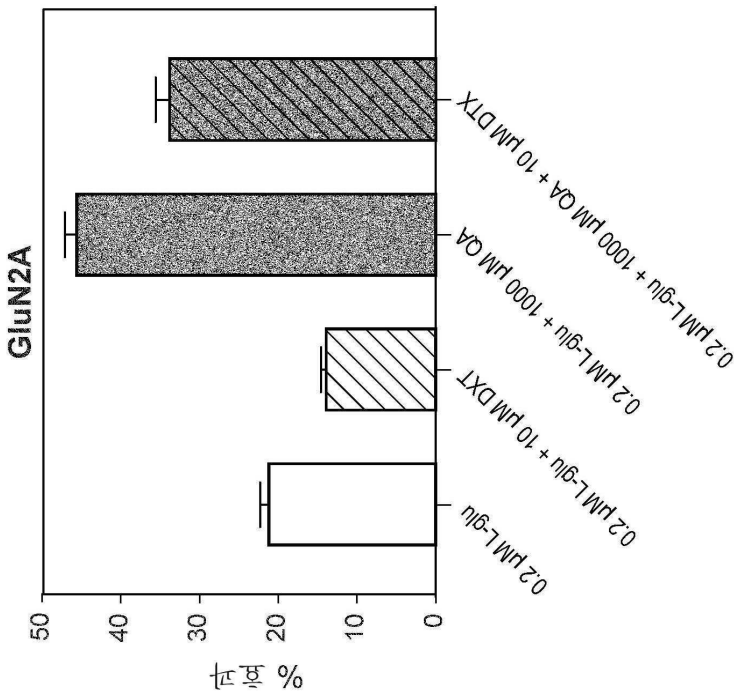
도면35c


GluN2C
% 효과
0
10
20
30
40
0.2 μM L-glu
0.2 μM L-glu + 10 μM DXT
0.2 μM L-glu + 100 μM QA
0.2 μM L-glu + 100 μM QA + 10 μM DTX

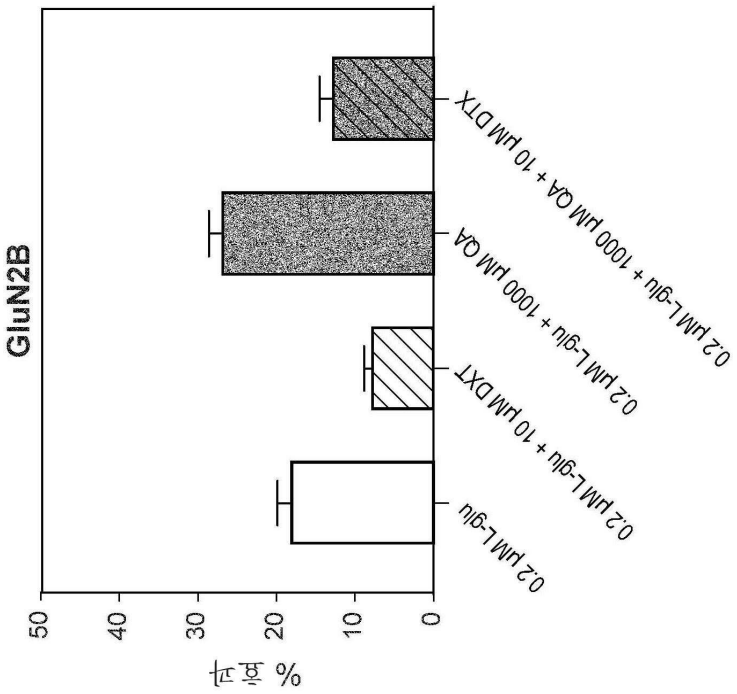
도면35d


GluN2D
% 효과
100
80
60
40
20
0
0.2 μM L-glu
0.2 μM L-glu + 10 μM DXT
0.2 μM L-glu + 100 μM QA
0.2 μM L-glu + 100 μM QA + 10 μM DTX

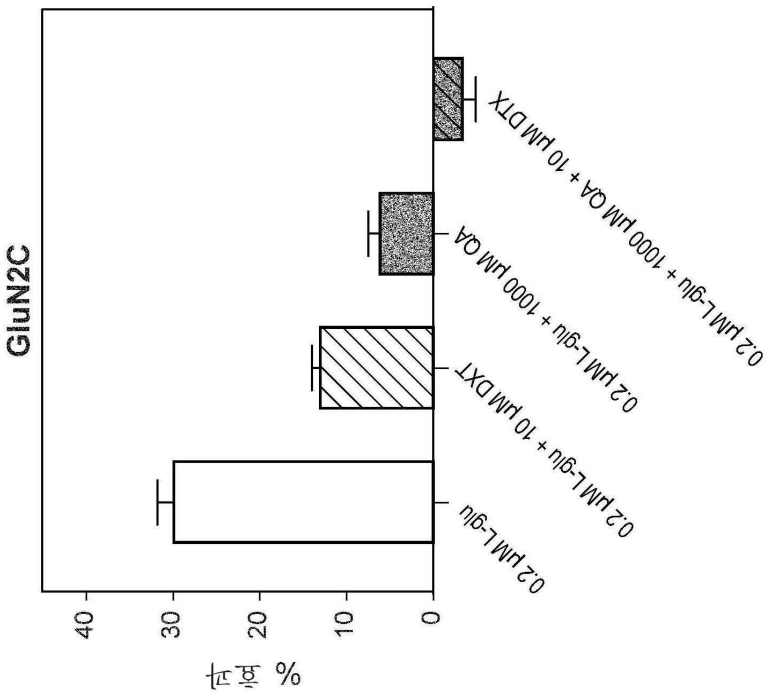
도면36a


GluN2A
% 효과
50
40
30
20
10
0
0.2 μM L-glu
0.2 μM L-glu + 10 μM DXT
0.2 μM L-glu + 1000 μM QA
0.2 μM L-glu + 1000 μM QA + 10 μM DTX

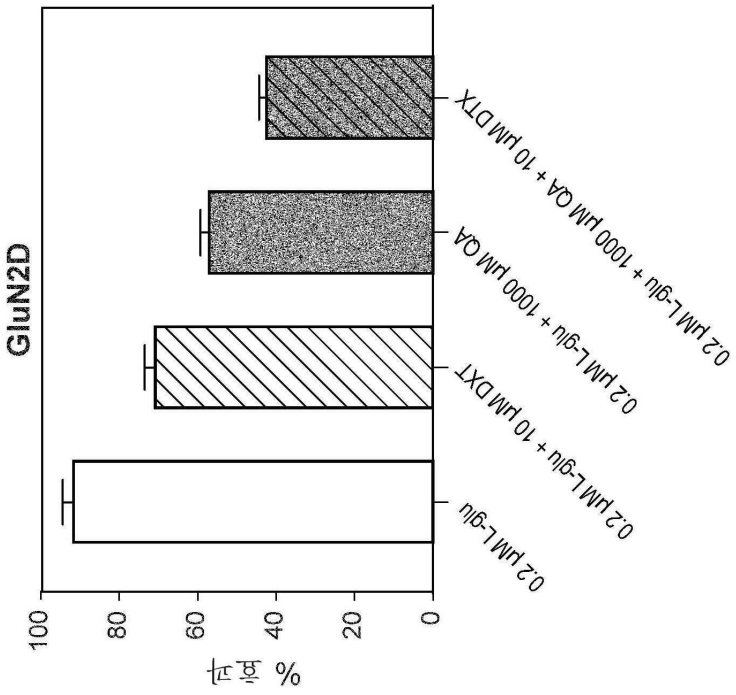
도면36b


GluN2B
% 효과
0
10
20
30
40
50
0.2 μM L-glu
0.2 μM L-glu + 10 μM DXT
0.2 μM L-glu + 1000 μM QA
0.2 μM L-glu + 1000 μM QA + 10 μM DTX

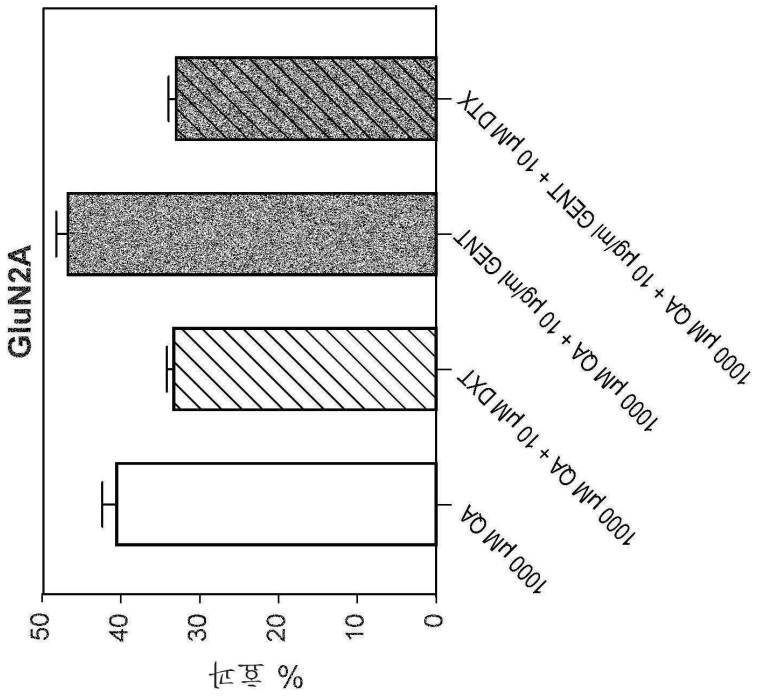
도면36c


GluN2C
% 효과
0
10
20
30
40
0.2 μM L-glu
0.2 μM L-glu + 10 μM DXT
0.2 μM L-glu + 1000 μM QA
0.2 μM L-glu + 1000 μM QA + 10 μM DTX

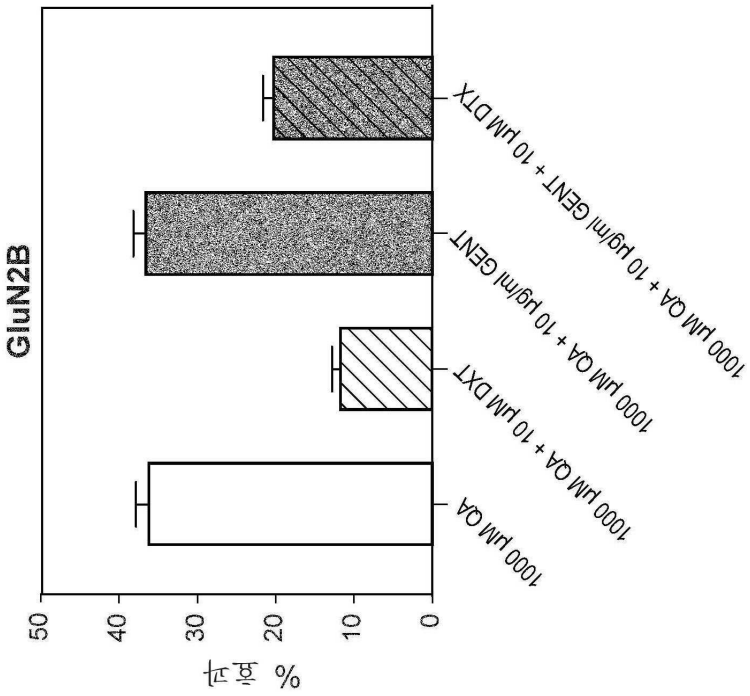
도면36d


GluN2D
% 효과
100
80
60
40
20
0
0.2 μM L-glu
0.2 μM L-glu + 10 μM DXT
0.2 μM L-glu + 1000 μM QA
0.2 μM L-glu + 1000 μM QA + 10 μM DTX

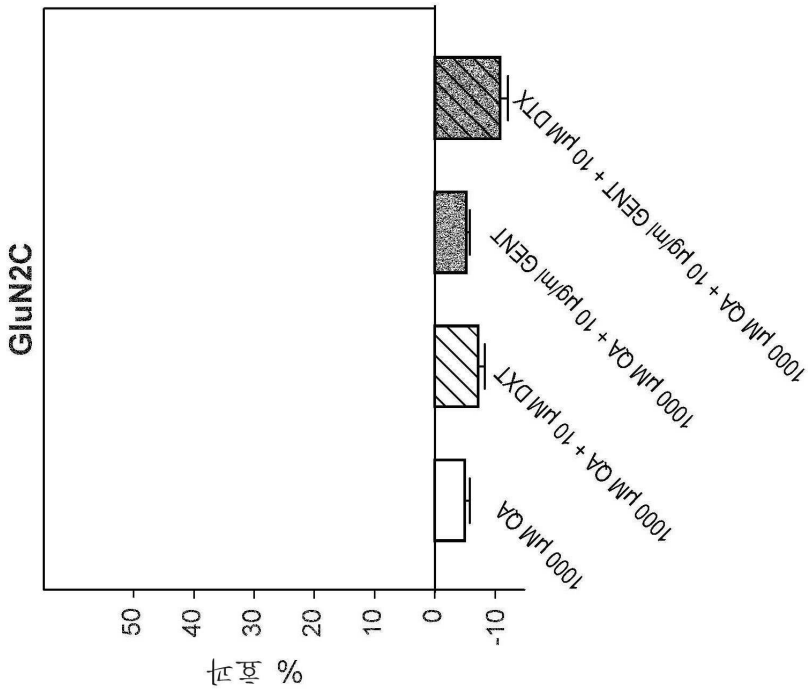
도면37a


GluN2A
% 효과
50
40
30
20
10
0
1000 μM QA
1000 μM QA + 10 μM DXT
1000 μM QA + 10 μg/ml GENT
1000 μM QA + 10 μg/ml GENT + 10 μM DTX

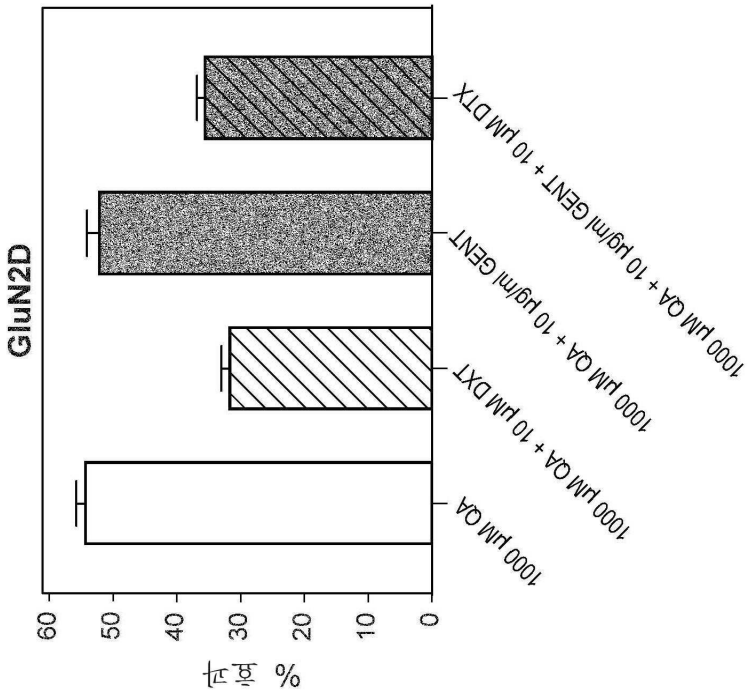
도면37b


GluN2B
% 효과
50
40
30
20
10
0
1000 μM QA
1000 μM QA + 10 μM DXT
1000 μM QA + 10 μg/ml GENT
1000 μM QA + 10 μg/ml GENT + 10 μM DTX

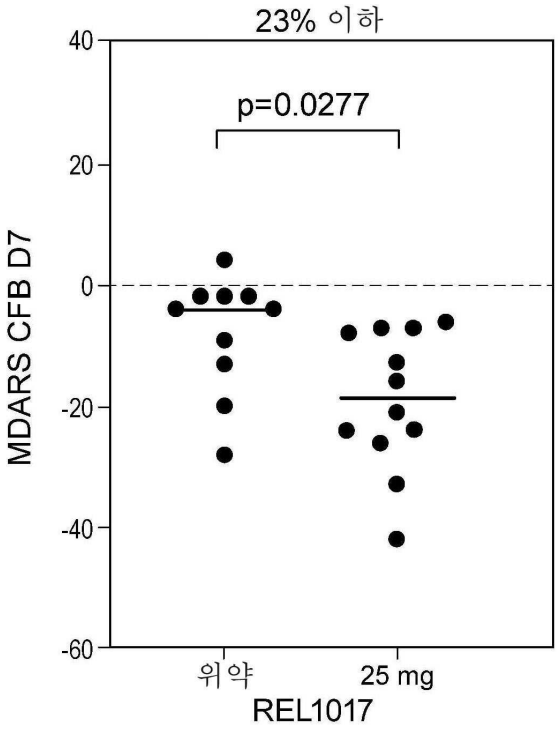
도면37c


GluN2C
% 효과
50
40
30
20
10
0
-10
1000 μM QA
1000 μM QA + 10 μM DXT
1000 μM QA + 10 μg/ml GENT
1000 μM QA + 10 μg/ml GENT + 10 μM DTX

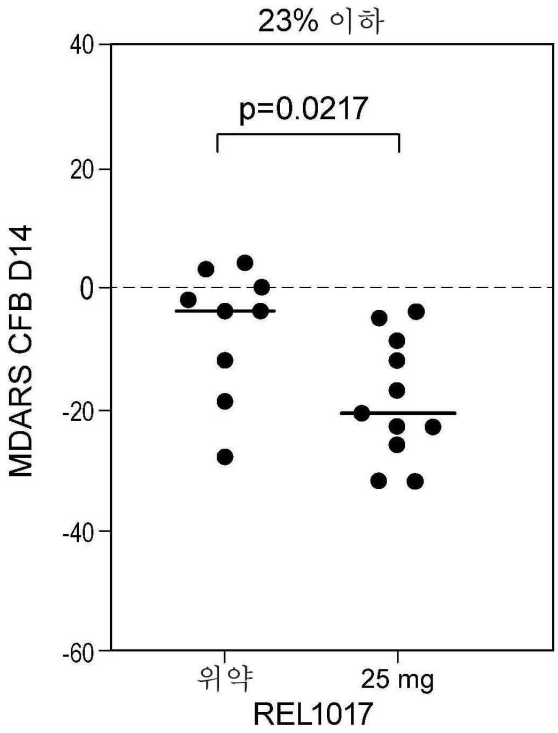
도면37d


GluN2D
1000 μM QA
1000 μM QA + 10 μM DXT
1000 μM QA + 10 μg/ml GENT
1000 μM QA + 10 μg/ml GENT + 10 μM DTX
60
50
40
30
20
10
0
효과 %

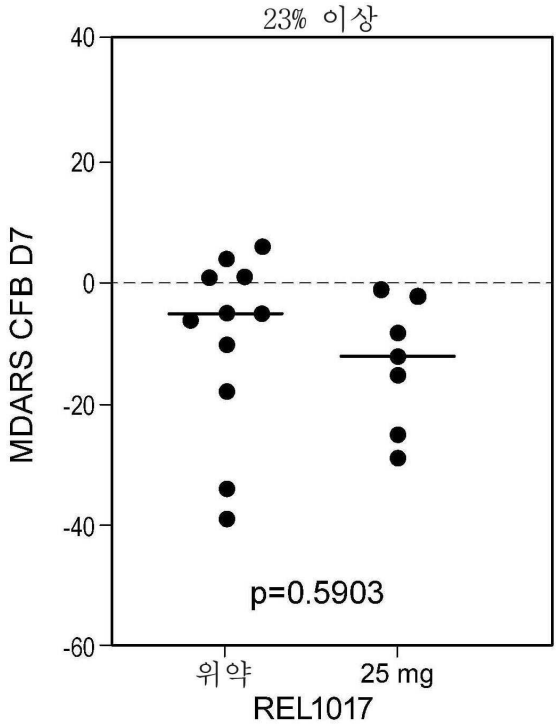
도면38a


23% 이하
p=0.0277
MDARS CFB D7
40
20
0
-20
-40
-60
위약
25 mg
REL1017

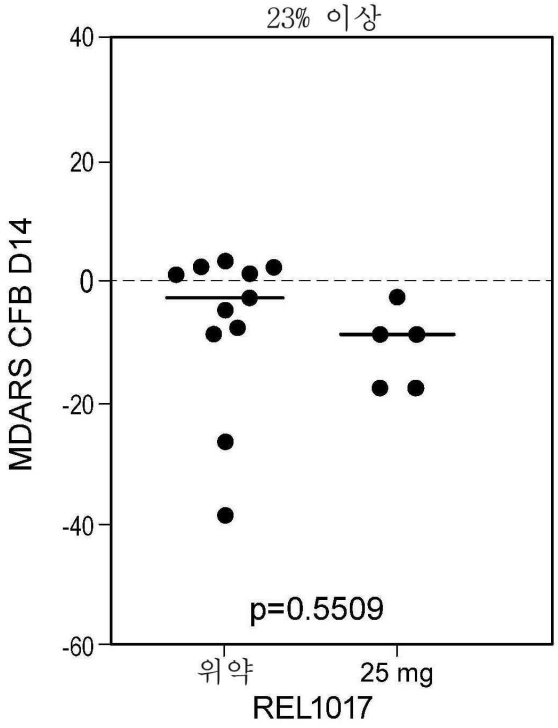
도면38b


23% 이하
p=0.0217
MDARS CFB D14
40
20
0
-20
-40
-60
위약
25 mg
REL1017

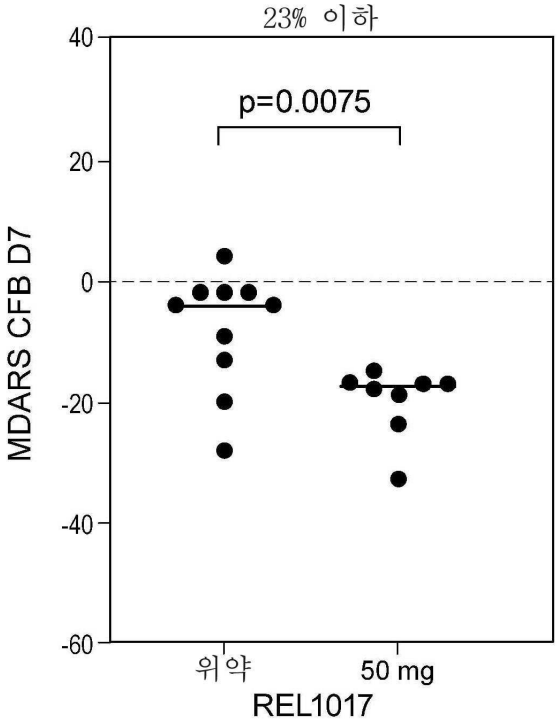
도면38c


23% 이상
MDARS CFB D7
40
20
0
-20
-40
-60
p=0.5903
위약
25 mg
REL1017

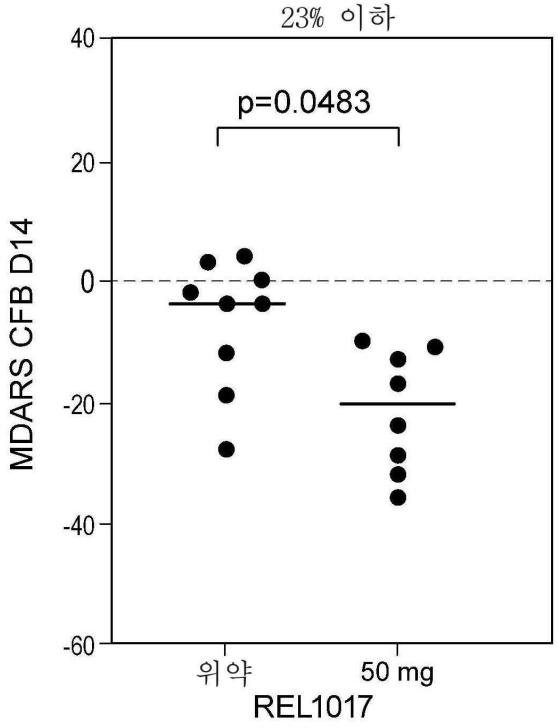
도면38d


23% 이상
40
20
0
-20
-40
-60
MDARS CFB D14
p=0.5509
위약
25 mg
REL1017

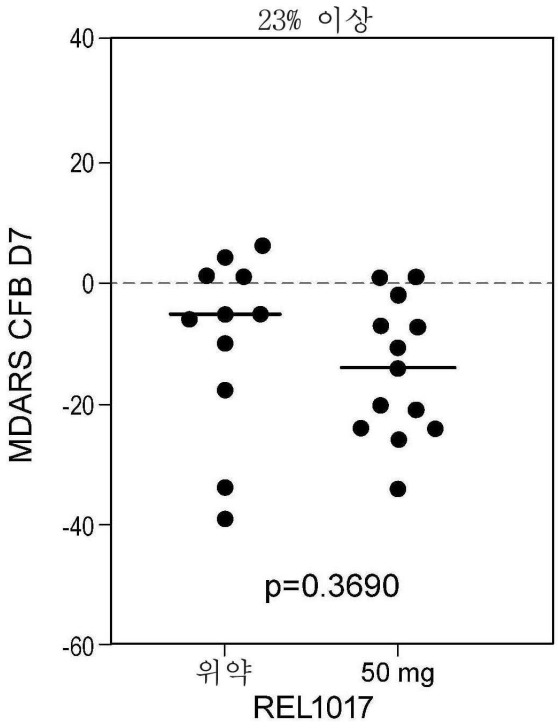
도면38e


23% 이하
40
20
0
-20
-40
-60
MDARS CFB D7
p=0.0075
위약
50 mg
REL1017

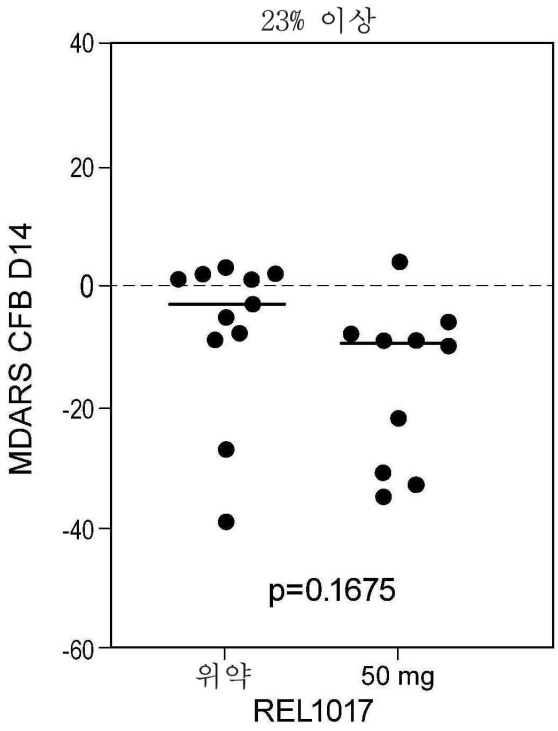
도면38f


23% 이하
p=0.0483
MDARS CFB D14
40
20
0
-20
-40
-60
위약
50 mg
REL1017

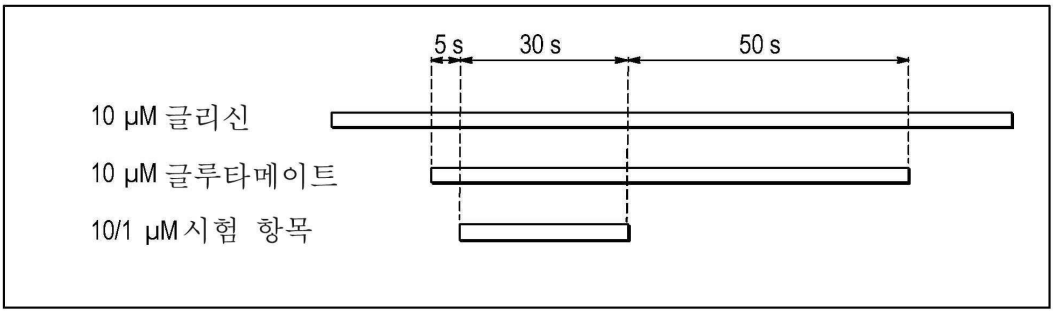
도면38g


23% 이상
MDARS CFB D7
40
20
0
-20
-40
-60
p=0.3690
위약
50 mg
REL1017

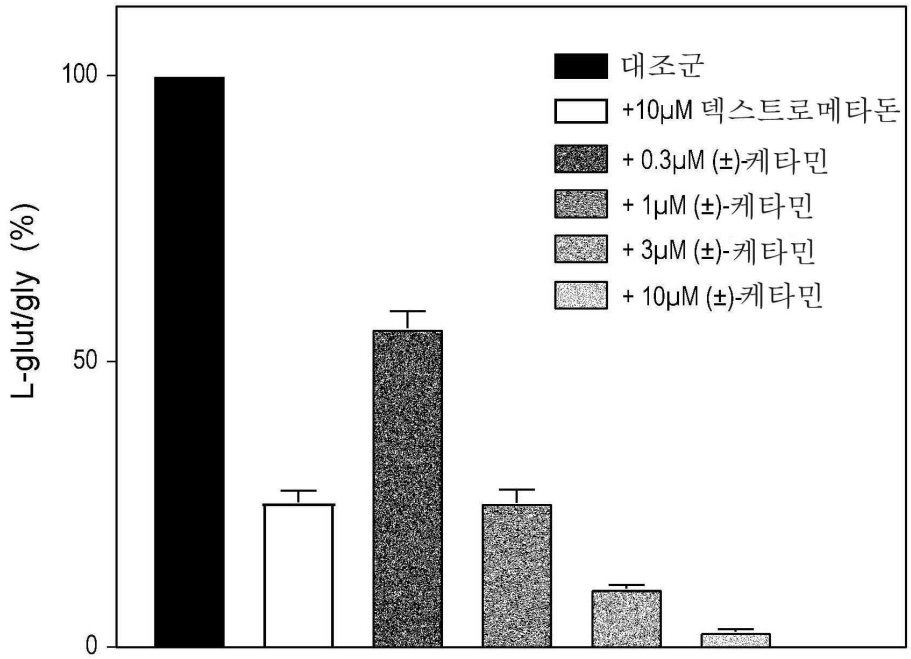
도면38h


23% 이상
40
20
0
-20
-40
-60
MDARS CFB D14
p=0.1675
위약
50 mg
REL1017

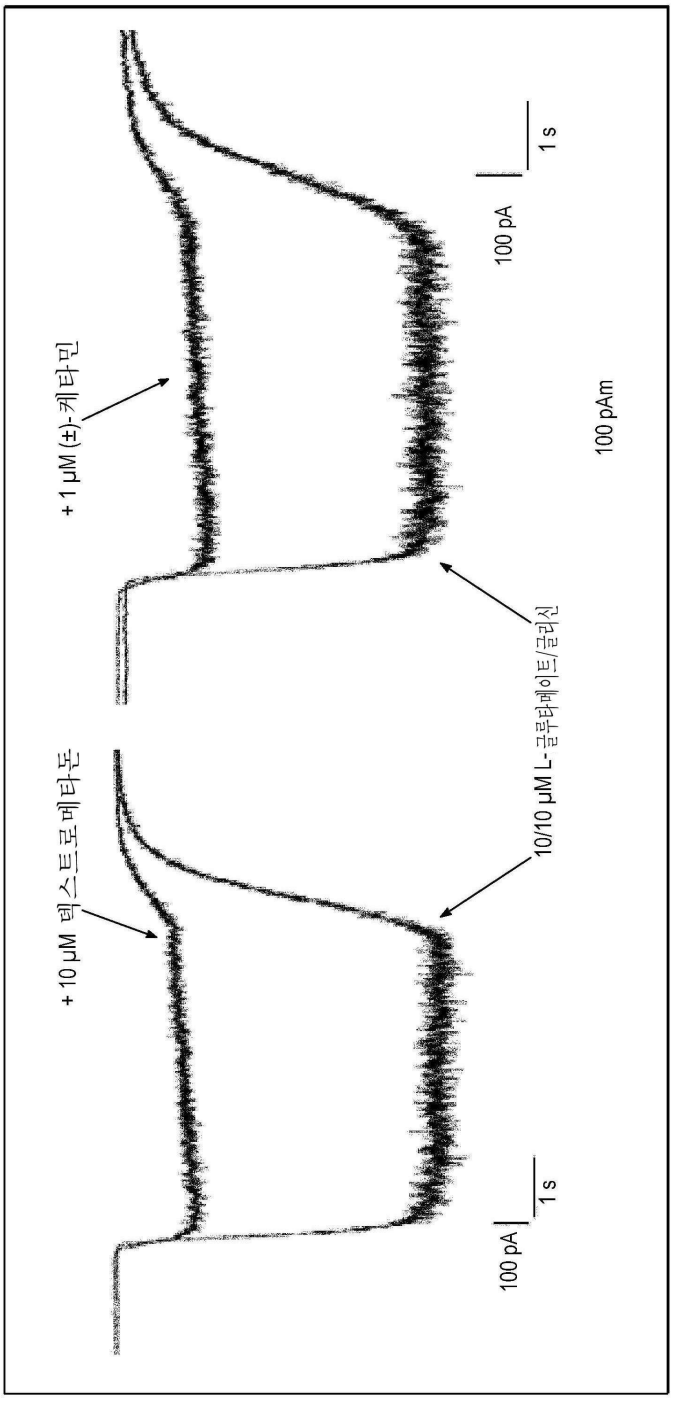
도면39


5 s
30 s
50 s
10 μM 글리신
10 μM 글루타메이트
10/1 μM 시험 항목

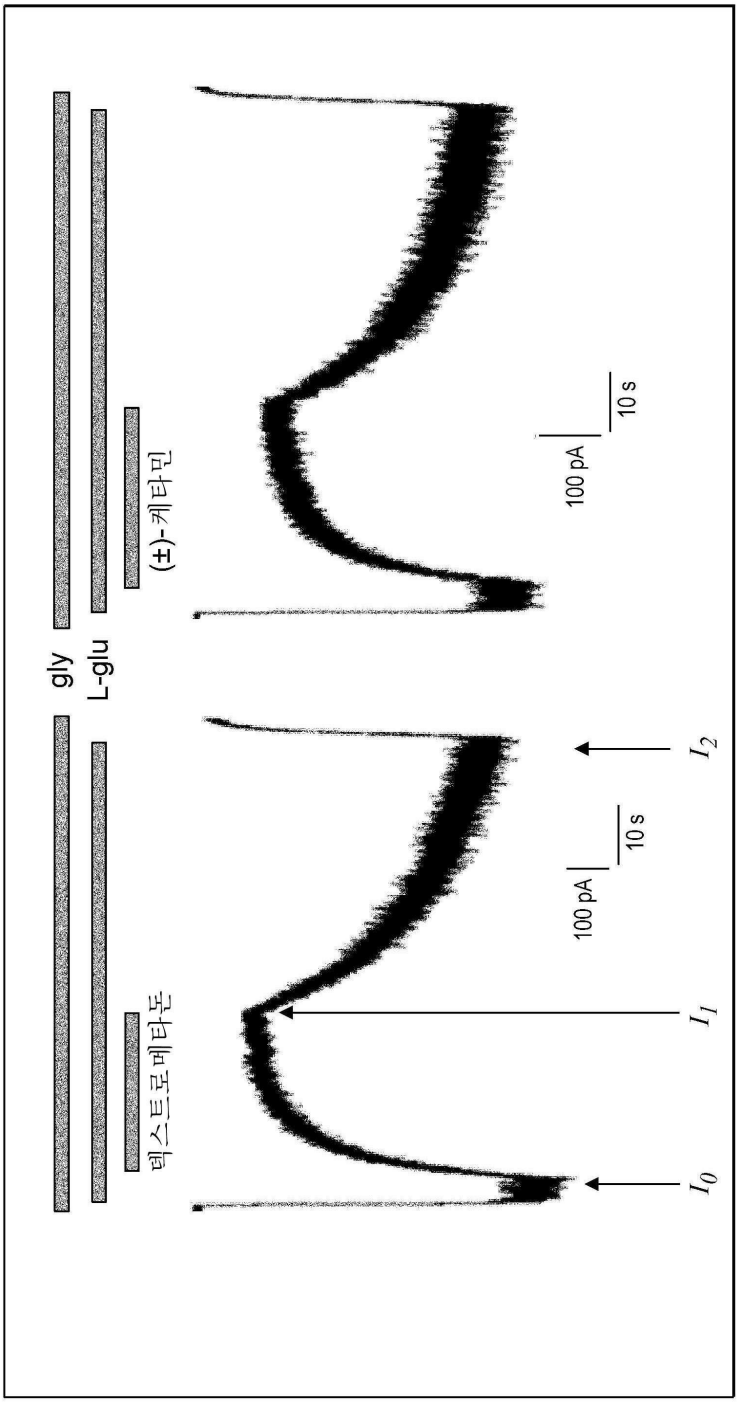
도면40


100
50
0
L-glut/gly (%)
대조군
+10μM 덱스트로메타돈
+ 0.3μM (±)-케타민
+ 1μM (±)-케타민
+ 3μM (±)-케타민
+ 10μM (±)-케타민

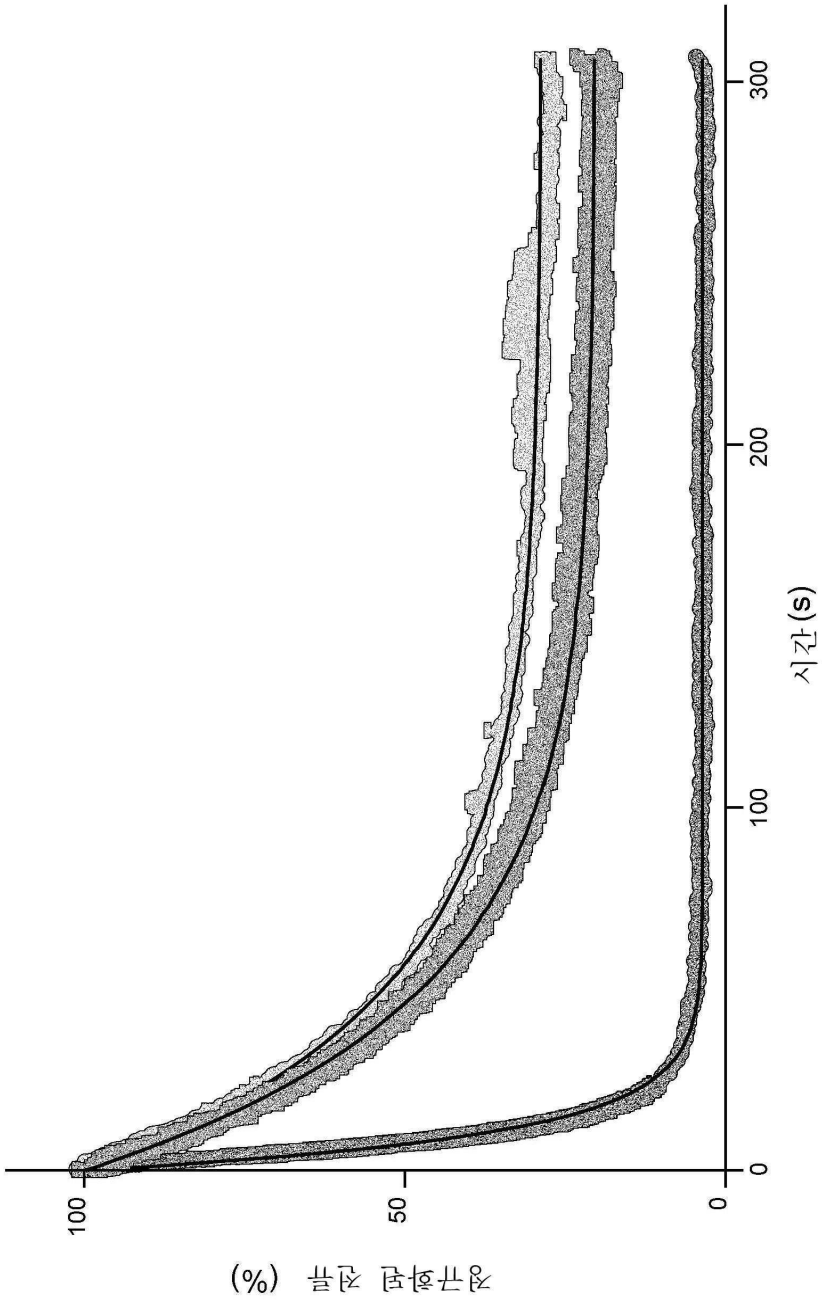
도면41


+ 10 μM 덱스트로메타돈
+ 1 μM (±)-케타민
10/10 μM L-글루타메이트/글리신
100 pA
1 s
100 pA
1 s
100 pAm

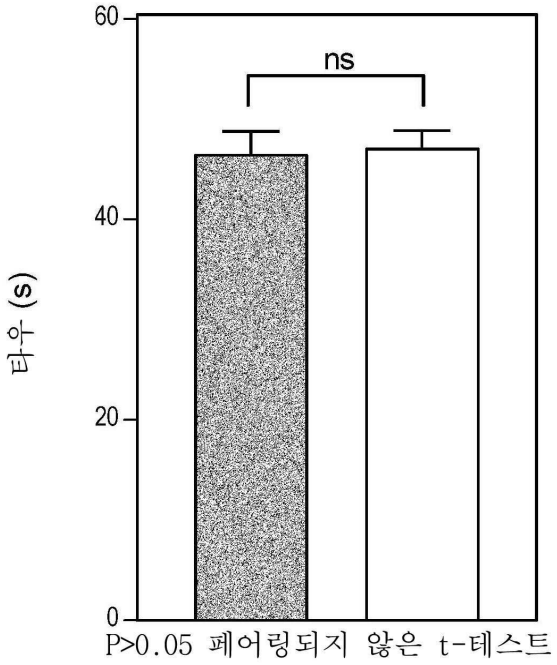
도면42



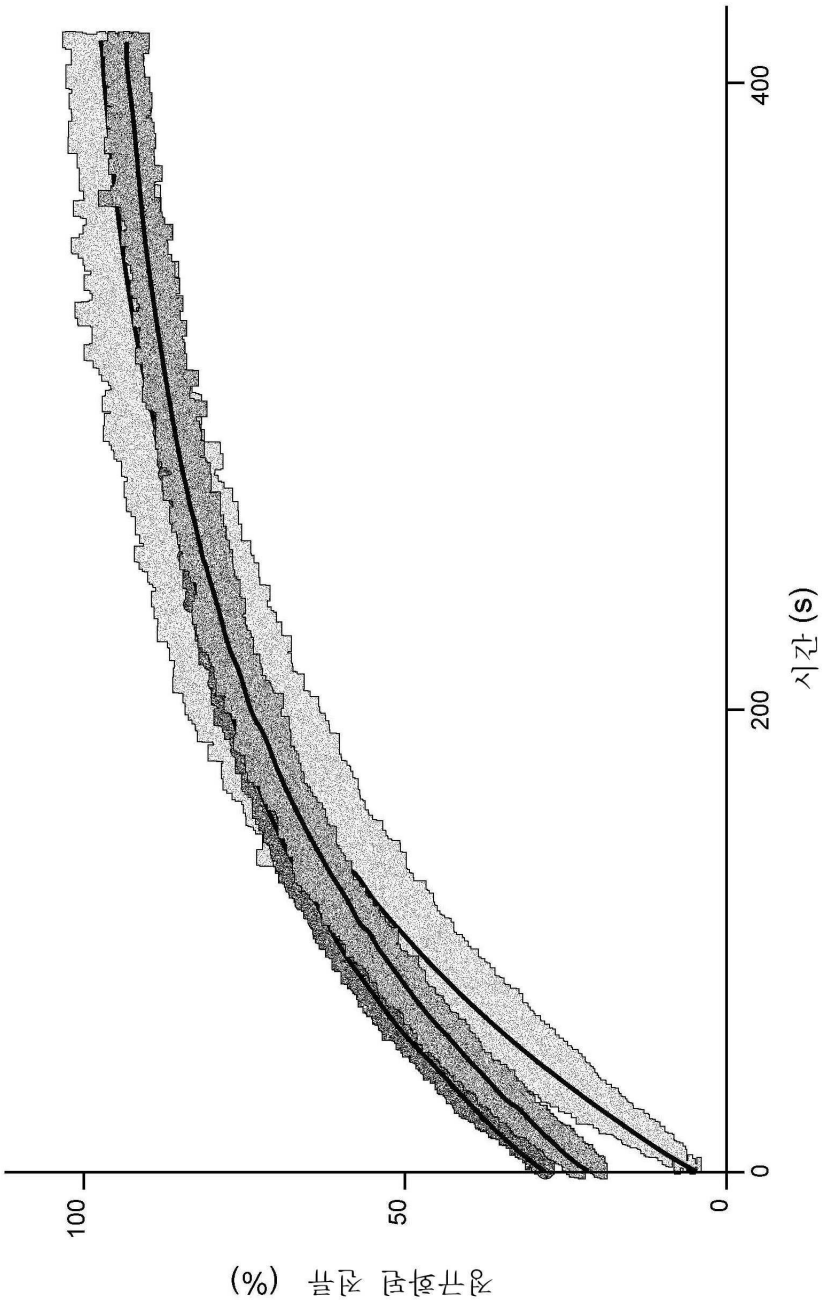
도면43



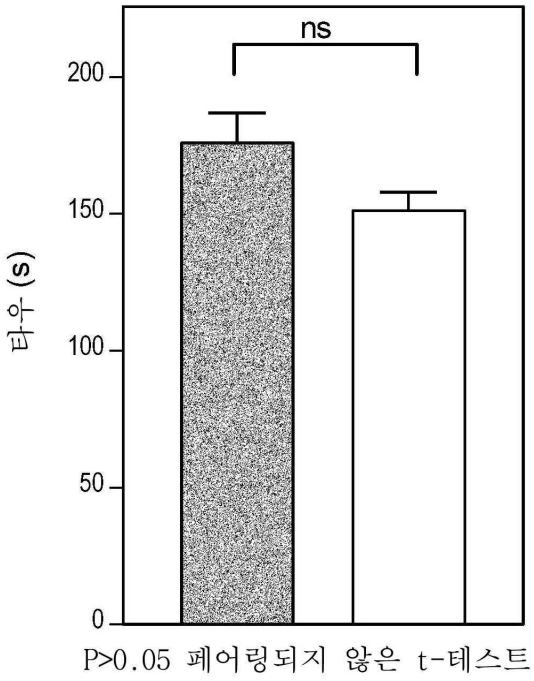
도면44



도면45

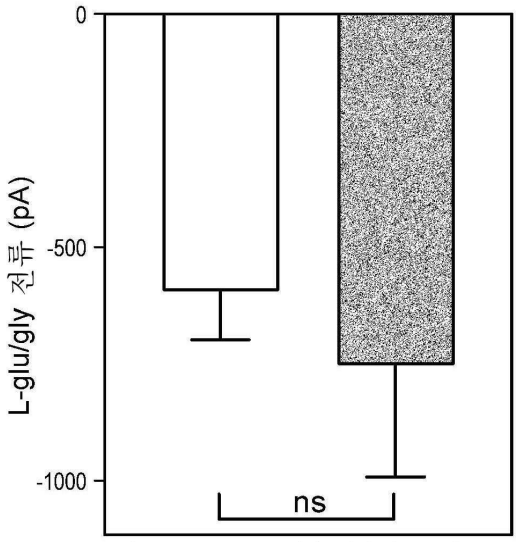


도면46



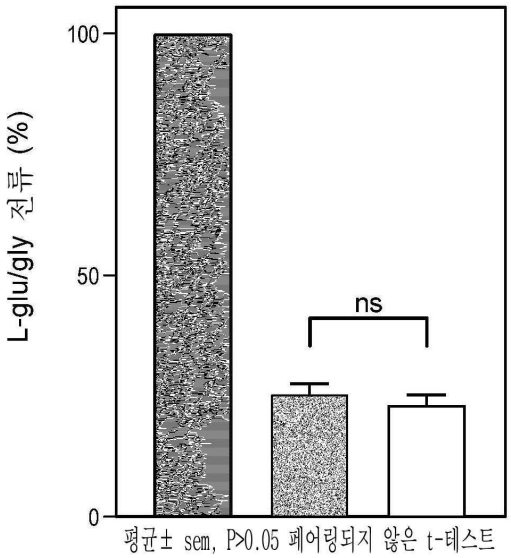
P>0.05 페어링되지 않은 t-테스트

도면47

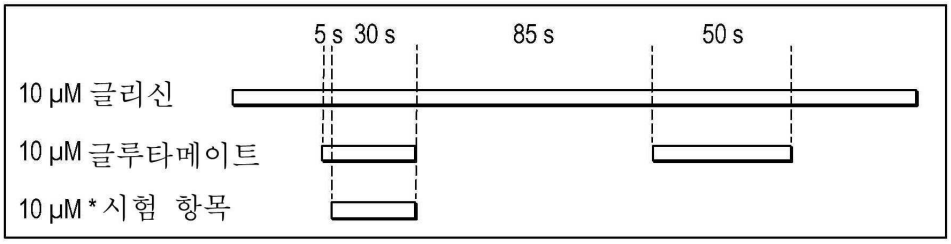


평균± sem, P>0.05 페어링되지 않은 t-테스트

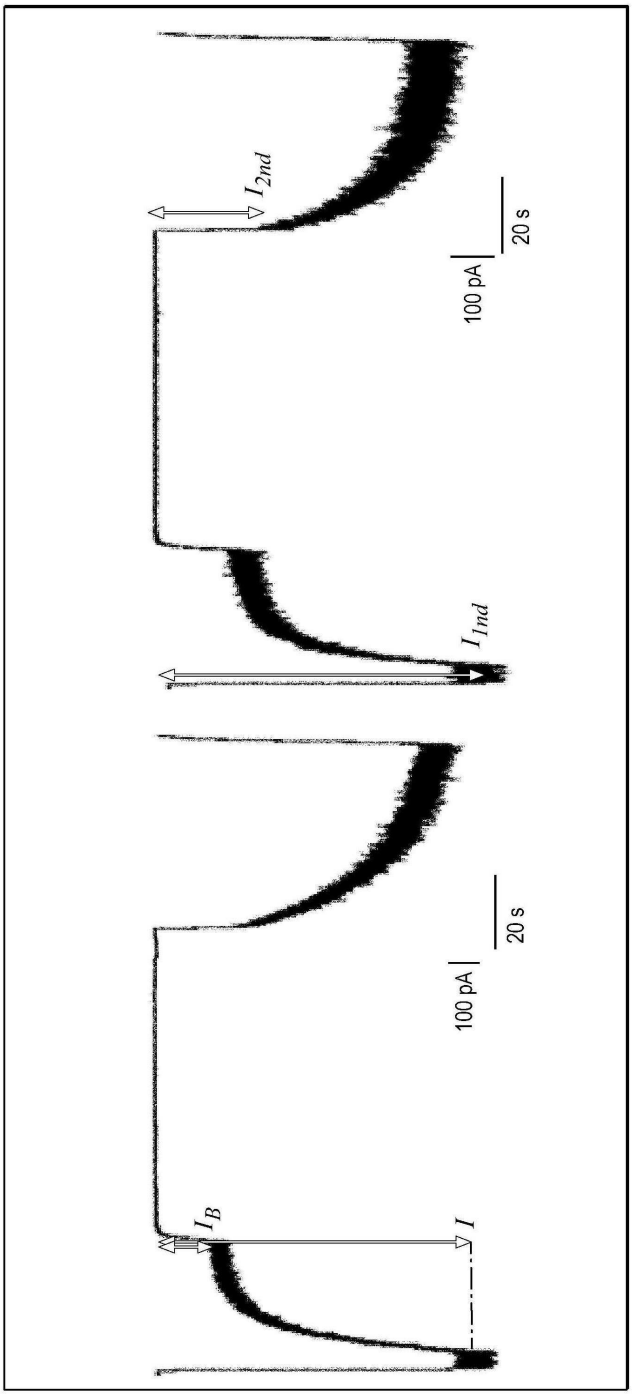
도면48


100
50
0
L-glu/gly 전류 (%)
ns
평균± sem, P>0.05 페어링되지 않은 t-테스트

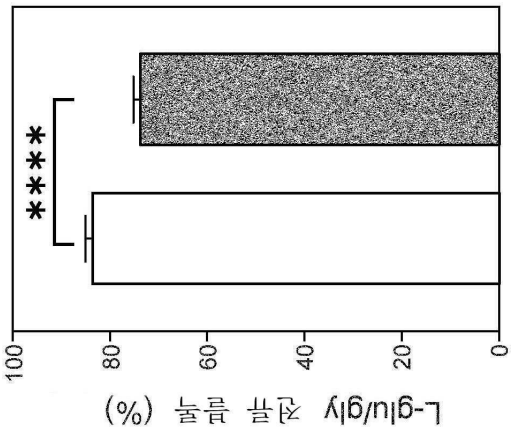
도면49


5 s
30 s
85 s
50 s
10 μM 글리신
10 μM 글루타메이트
10 μM * 시험 항목

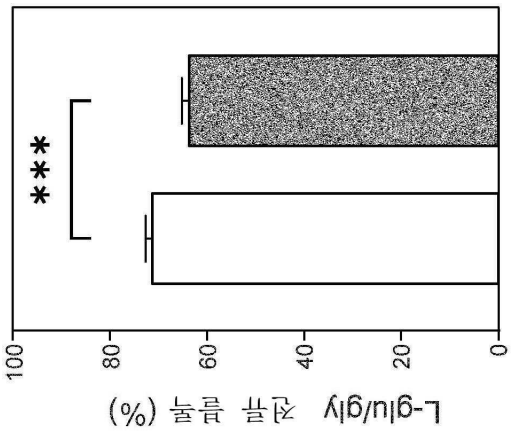
도면50



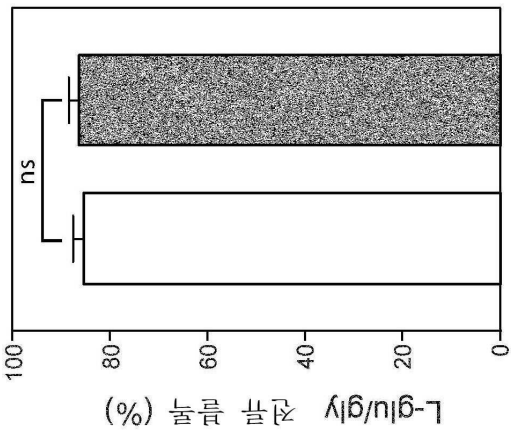
도면51a



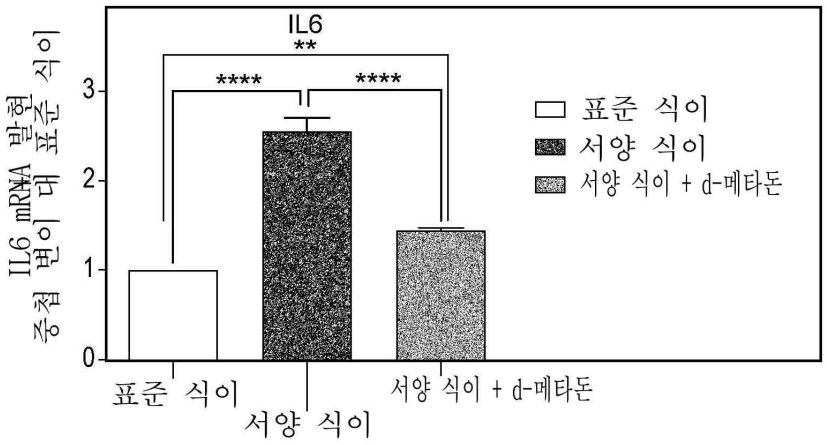
도면51b



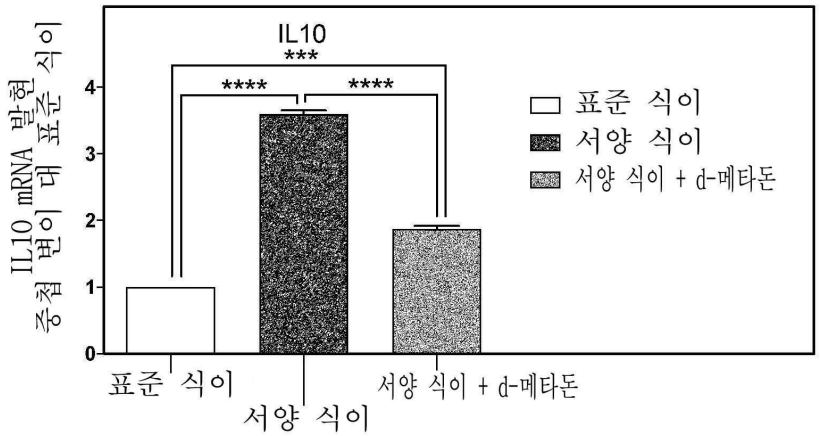
도면51c



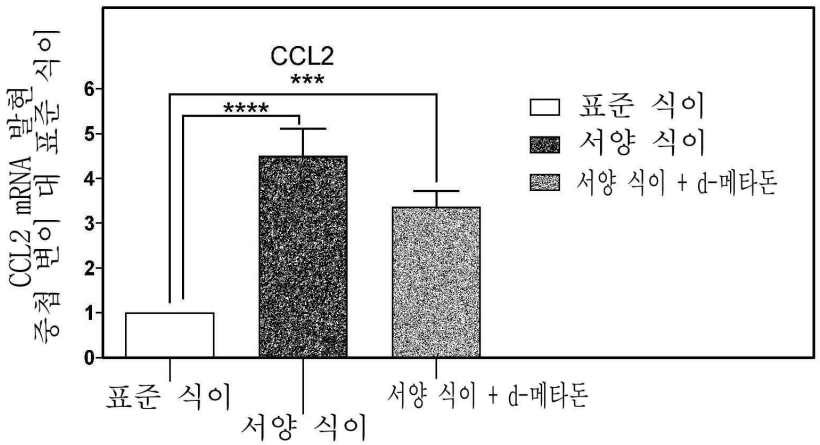
도면52a



도면52b



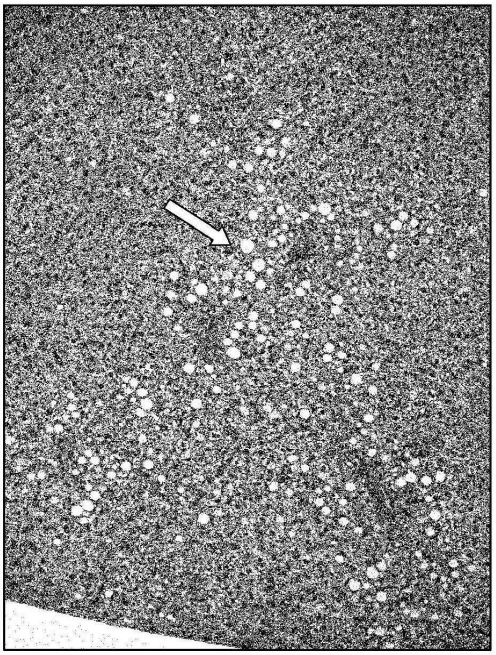
도면52c



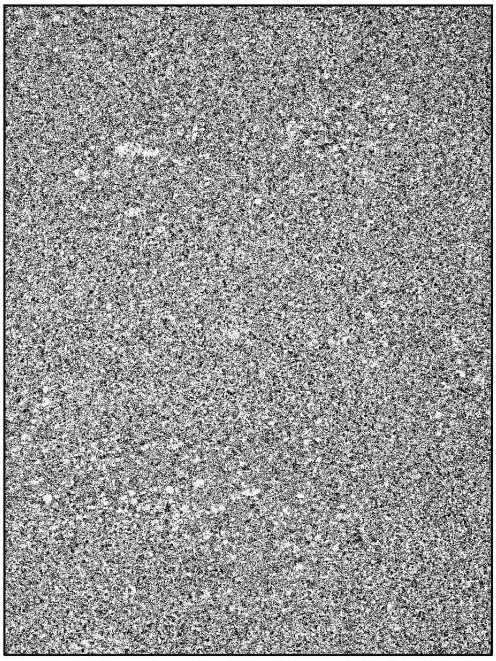
도면53a



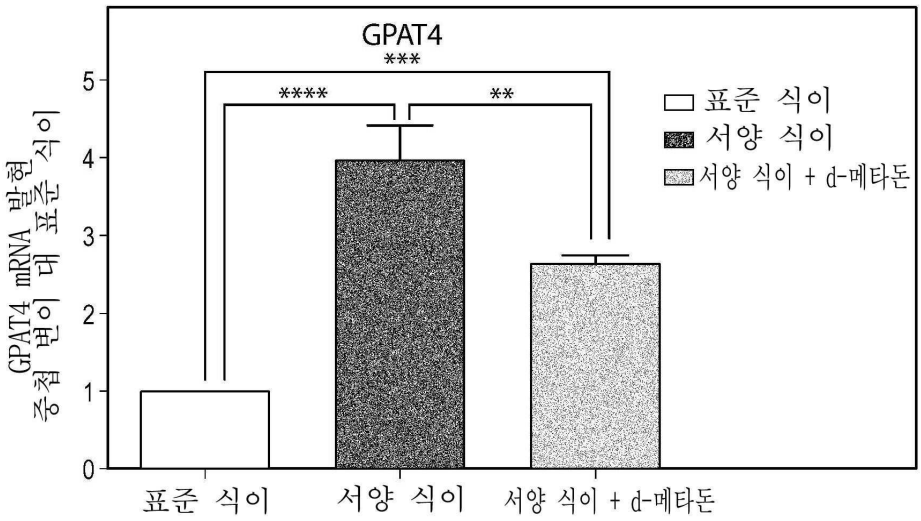
도면53b



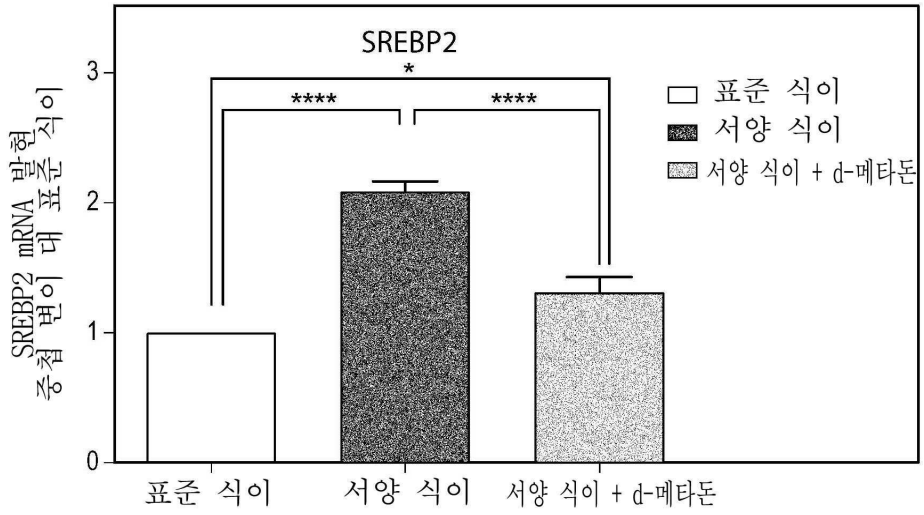
도면53c



도면54a


GPAT4
***
****
**
GPAT4 mRNA 발현
중첩 변이 대 표준 식이
0
1
2
3
4
5
표준 식이
서양 식이
서양 식이 + d-메타돈
표준 식이
서양 식이
서양 식이 + d-메타돈

도면54b


SREBP2
*
****
****
표준 식이
서양 식이
서양 식이 + d-메타돈
SREBP2 mRNA 발현
중첩 변이 대 표준 식이
0
1
2
3
표준 식이
서양 식이
서양 식이 + d-메타돈